

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

PREMATÜRE BEBEKLERDE TRANSFÜZYON ÖNCESİ VE TRANSFÜZYON
SONRASI NO, VEGF, IGF-1, IGFBP-3 DÜZEYLERİ VE PREMATÜRE
RETİNOPATİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ
DR. DAVUT BOZKAYA

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. EBRU ERGENEKON

ANKARA-2008

İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
BULGULAR.....	27
TARTIŞMA.....	36
SONUÇLAR.....	44
ÖZET.....	45
KAYNAKLAR.....	46
EKLER.....	59

KISALTMALAR

AAPOS	: Amerikan Pediatri Akademisi, Oftalmoloji Derneği
AP-1	: Aktive Fosfokinaz-1
DA	: Doğum Ağırlığı
eNOS	: Endoteliyal NOS
GY	: Gestasyon Yaşı
G	: Gün
Hb	: Hemoglobin
IGF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
IGFBP-3	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein-3
MAP	: Mitojen Aktive Eden Protein
NEDD	: Naftilendiamine Dihidraklorür
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
OD	: Optik Dansite
ROP	: Prematüre Retinopatisi

SOD	: Süperoksid Dismutaz
SULF	: Sulfanilamid
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VPF	: Vasküler Permeabilite Arttırıcı Faktör

GİRİŞ VE AMAÇ

Otuzyedinci gestasyon haftasını tamamlamadan doğan bebekler prematüre olarak adlandırılır. Prematüre bebeklerin doğum haftası ve doğum ağırlığı azaldıkça mortalite ve morbidite oranları artmaktadır. Teknolojideki gelişmelerle birlikte düşük doğum ağırlıklı ve haftalı bebeklerin yaşama şansı artmış ancak bununla birlikte bu bebeklerde ileriye yönelik sorunlarda artma gözlenmiştir. Bu sorunların başında prematüre retinopatisi (ROP) gelmektedir. ROP, prematüre bebeklerin vaskülarizasyonunu tamamlamamış immatür retinalarında vasküler ve avasküler bileşkede gelişen anormal damarsal çoğalmadır. İlk olarak Teryy tarafından 1942 yılında tanımlanmıştır. Anormal bir anjiogenez olan ROP de son dönemlerde anjiogenezise etkili ajanlardan olan Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF), İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 (IGF-1), İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein-3 (IGFBP-3) ve Nitrik Oksit (NO) suçlanmaktadır. Prematüre bebekler doğum ile birlikte birden yüksek oksijen konsantrasyonuna maruz kalırlar. Yüksek oksijenin hem direkt etki ile hem de NO üzerinden VEGF sentezini baskılaması, ayrıca doğum ile birlikte VEGF'nin etki edebilmesi için ortamda mutlaka olması gereken IGF-1'in düzeyinin hızla azalması retinal damar gelişimini sekteye uğratır. Bu durum ilerleyen dönemde VEGF ve IGF-1 artınca anormal damar oluşumuyla sonlanır. Diğer taraftan prematüre bebekler taburcu olana kadar çok sayıda eritrosit transfüzyonu almaktadırlar. Her bir transfüzyonla bebeklere verilen yetişkin eritrositlerinin (Hb-A), fetal hemoglobin olan Hb-F' ye göre oksijen afinitesinin düşük olması nedeni ile dokulara fazla oksijen verilmekte, bu da hem VEGF sentezini baskılamakta hem de dokularda serbest oksijen radikali oluşması yolu ile damar

hasarlanmasını arttırarak ROP gelişimine katkıda bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı:

1. Prematüre retinopatisi açısından risk altında olan yenidoğanlarda eritrosit transfüzyonları ile serum NO, VEGF, IGF-1, IGFBP3 düzeylerinin değişip değişmediğini araştırmak
2. Prematüre bebeklerde uygulanan eritrosit transfüzyon sıklığı, serum NO, VEGF, IGF-1, IGFBP3 düzeyleri ile ROP ilişkisini araştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

PREMATÜRE YENİDOĞAN

Otuzyedinci gestasyon haftasını tamamlamadan doğan bebekler prematüre olarak kabul edilir. Gestasyonel 32. haftayı tamamlamadan doğan bebekler ise aşırı prematüre olarak kabul edilmektedir. Ayrıca doğum ağırlığına göre de 2500 gramın altında olan bebekler düşük doğum ağırlıklı, 1500 gr'ın altında doğanlar çok düşük doğum ağırlıklı, 1000 gr'ın altında doğanlar ise ileri derecede düşük doğum ağırlıklı bebek olarak adlandırılır. Ülkemizde prematüre doğum sıklığı tam olarak bilinmemekle birlikte yaklaşık %15 olduğu sanılmaktadır. Ancak aşırı prematürite ya da çok düşük doğum ağırlıklı doğum sıklığı daha düşüktür (10,64).

Tablo-1: 1981–1993 arası ABD’de Prematüre Bebek Sıklığı.

Doğum Haftası	Sıklığı
26 hafta	%0,1
26–28 hafta	%0,2
29–32 hafta	%0,8

Prematüre bebeklerde solunum distresi, dolaşım yetmezliği, enfeksiyon, anemi, beslenme intoleransı, kanama gibi pek çok akut sorun görülebilir ve yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde bu sorunların üstesinden gelinmeye çalışılır.

Son teknolojik gelişmelerle birlikte prematüre bebeklerin yaşama şansı artmış ancak bununla birlikte bu bebeklerde nörolojik, oftalmolojik, odyolojik, solunumsal ve psikososyal gibi pek çok sorunun görülme sıklığı da artış göstermiştir. Prematüre retinopatisi (ROP) özellikle çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde görülme sıklığı artan sorunlardan biridir (75,76).

PREMATÜRE RETİNOPATİSİ (ROP)

Premature Retinopatisi, tedavi alanındaki tüm gelişmelere rağmen prematüre bebeklerin en önemli akut ve kronik sorunu olarak yerini korumaktadır. ROP, düşük doğum haftalı ve düşük doğum ağırlıklı prematüre bebeklerdeki henüz damarsal oluşumunu tamamlamamış retinal damarların anormal proliferasyonu olarak tanımlanmaktadır. İki aşamadan oluşur; ilk aşamada damar yapısında hasar oluşur, ikinci aşamada ise hasarlı bölgeden anormal damar gelişimi meydana gelir (41,62).

ROP Görülme Sıklığı:

Tüm çalışmalar göstermektedir ki; prematüre bebekler ne kadar düşük doğum ağırlıklı ve doğum haftası ne kadar küçükse ROP görülme olasılığı o kadar artmaktadır. Gestasyon yaşı (GY) 27 haftanın altında ve doğum ağırlığı (DA) ≤ 750 gr olan bebeklerin hemen hepsinde ROP görülürken, DA < 1000 gr olanların %80'inde, DA ≤ 1251 gr olanların ise yaklaşık %65'inde görülür (24,55,56,62,69).

Tarihçe

İlk olarak 1942'de Terry 7 prematüre bebekte göz arkasındaki damarsal değişiklikleri retrolental fibroplazi olarak tanımlamış, daha sonra 1952'de retrolental fibroplazinin oksijenle ilgisinden bahsedilmeye başlanmıştır (79). Yine 1952 ve 1953'te hayvan deneylerinde yüksek oksijenin retrolental fibroplaziye neden olduğu gösterilmiştir. Bin dokuz yüz ellibeş yılında yapılan bir çalışmada ise 2 grup prematüre bebekten 1. gruba normal prematürenin gerektirdiği ölçüde oksijen verilirken, 2. gruba oksijen azaltılmış olarak verilip, iki grup karşılaştırıldığında 1. grupta ROP gelişme oranı %72, 2. grupta %30 olarak tespit edilmiştir. Bin dokuz yüz altmışlarda yoğun bakımlarda arteriyel kan gazlarının monitörize edilmeye başlanması ile prematüre bebeklerde kontrollü oksijen kullanılmaya başlanması ve

ROP oranlarında azalma sağlanmışsa da, 1970'lerden sonra yenidoğan yoğun bakım ünitelerinin gelişmesi ve giderek daha düşük doğum ağırlıklı bebeklerin yaşatılması ile ROP oranında yeniden bir artış baş göstermiştir. Bin dokuz yüz kırk ikiden 1950'lerin ortasına kadar süren kontrolsüz oksijen kullanımına bağlı yüksek ROP oranının olduğu döneme 1. ROP epidemisi, 1970'lerin sonundan günümüze dek devam eden yüksek riskli prematüre bebeklerin yaşama şansının artmasına bağlı olarak ROP sıklığında artış görülen döneme ise 2. ROP epidemisi denir (54).

ROP Patogenezi

ROP prematüre bebeklerde periferik avasküler bölge ile vasküler santral bölgenin birleşimindeki anormal damarsal çoğalmadır. Normalde retinanın damarlanması embriyonel hayatta 4. haftada optik diskin etrafından başlar, periferik doğru ilerleyerek 36. haftada nazal, 40. haftada temporal retinada son bulur (53). Prematüre bebeklerin doğum haftası ve doğum ağırlığı ne kadar az ise doğum sırasında retinal damarların gelişmesi o kadar geri olacağından ROP insidansı artar (38,44,62).

ROP gelişmesinde birçok faktör suçlanmışsa da yalnızca düşük doğum haftası ve düşük doğum ağırlığı ile yüksek oksijen konsantrasyonunun etkisi ispatlanmış durumdadır (7,71). Embriyonel hayatta bebeklerde arteriyel oksijen basıncı yaklaşık olarak 25–30 mmHg kadardır. Doğumla birlikte aniden 60–80 mmHg'ya yükselir bu yükselme ile retinal damarlarda birden refleks vazokonstriksiyon ve vazooobliterasyon olur (73). Yüksek oksijene maruziyet 42–72 saat gibi uzun sürerse retinal damarlarda kalıcı tıkanıklığa neden olarak retinanın hasarlanmasına neden olur. Kanlanması bozulan retinada serbest radikaller özellikle NO ve türevleri artmaya başlar. Ortamda artan radikaller retinal vaskülarizasyondan sorumlu mezankimal hücrelerde

araşidonik asit peroksidasyonuna neden olarak hücrelerin çoğalmasını engeller (48). Aynı zamanda yüksek oksijen ve NO retinal damarlanma için gerekli olan vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) sentezini azaltır (3,4,19,27). Faz 1 olarak kabul edilen bu aşamada damar yapısında bozulma ve damar oluşumunda duraklama yaşanır ve retinada hipoksi gelişir. Faz 2 olarak ifade edilen 2. aşamada ise damar yapısı bozulan ve hipoksik kalan retinada VEGF sentezi artar (7,89). Artan VEGF'nin retinal damarlarda anormal proliferasyona yol açması sonucu ROP gelişir. Bunu engellemek için bazı çalışmalarda intravitreal anti VEGF serumu verilmiş ve neovaskülarizasyonda azalma olduğu izlenmiştir (7,72,73,74). Tüm bunlar retinal damar gelişimi için VEGF' nin önemli olduğunu göstermektedir. Ancak VEGF kadar önemli diğer bir aracı kimyasal da insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1)' dir. VEGF' nin reseptör aktivasyonu için ortamda yeteri kadar IGF-1 olması gerekir (50,57). Yapılan çalışmalar ortamda yeterli IGF-1 olması halinde prematüre bebeklerde retinal damar gelişiminin faz-1 aşamasında kesintiye uğramayacağını göstermiştir (85).

VEGF

İlk olarak 1983 yılında Senger ve Dvorak tarafından farelerin cildinden izole edilen bir faktörün damar geçirgenliğini arttırdığı tespit edilmiş ve buna vasküler permeabilite artırıcı faktör (VPF) denilmiştir. Bundan yaklaşık 10 yıl sonra 3 ayrı araştırma grubu birbirinden bağımsız olarak vasküler endotele özgü mitojen olan VEGF' yi tanımlamışlardır. Daha sonra yapılan moleküler çalışmalar VPF ile VEGF'in aynı olduğunu göstermiştir. VEGF 45 kDalton ağırlığında, disülfid bağlarıyla bağlı dimerik bir glikoproteindir. Yarılanma ömrü 10 dakika ile 6 saat arası değişir. VEGF monomerik ünitelerine ayrıldığı zaman biyolojik aktivitesini kaybeder (18).

Embriyonel hayatta vasküler dokunun gelişimi için temel moleküllerden olan VEGF post-embriyonik dönemde ise yeni kan damarlarının oluşumu ve patolojik koşullarda anormal damar oluşumuna neden olmaktadır (6,16,17,22,36,88). VEGF ailesi bir tek aminoasitin yerleşimindeki farklılığa göre 5 farklı izoformdan oluşur. Bu 5 glikoprotein sırasıyla şunlardır: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E. Ayrıca heparine bağlanma özelliklerine ve çözünür olup olmasına göre de kendi içlerinde ayrılırlar. VEGF-E insanlarda değil virüslerde sentez edilir (1,6,16,17,18,36,63).

VEGF-A:

VEGF-A geni 6q21,3 te lokalizedir. VEGF-A damar gelişiminin tüm basamaklarında görev alan ve VEGF olarak tanımlanıp sürekli araştırılan dominant VEGF formudur. Hem damar gelişimini başlatır hem de damar yapısının korunması ve matürasyonu için gereklidir. Normal yetişkinlerde VEGF üretimi sınırlıdır. Ancak araya giren patolojik durumlar ile VEGF düzeyinde artma gözlenir. Bu uyarıların başında ise hipoksi gelmektedir. Özellikle tekrarlayan hipoksi ve hiperoksi atakları VEGF sentezini artırır. Artan VEGF retinada anormal damar çoğalmasına neden olur. Çalışmalarda (özellikle diyabetik retinopatili hastalarda) ve farelerde VEGF anti serumu kullanıldığında anormal damarlanmanın yavaşladığı izlenmiştir. VEGF-A' nın aminoasit sayılarındaki farklılığa göre 5 farklı izoformu bulunur (VEGFA–121, 145, 165, 189, 206). Bunlardan VEGFA -165 anjiogeneizde esas etkili formdur (18).

VEGF–121

Çözünebilen ve heparine bağlanmayan 121 aminoasitten oluşan formudur. Embriyonel hayatta damar gelişiminin başlaması için gereklidir. VEGF–121

embriyonel dönemde anjiogenezis için dominant VEGF formu iken doğumla beraber seviyesinde hızla düşme görülür. Bu da VEGF–121'in damar matürasyonu ve yeniden yapılanma (remodeling) aşamasında diğer VEGF formları kadar etkin olmadığını gösterir. Diğer taraftan hipokside ilk olarak artan VEGF formu olması postpartum dönemde de anjiogenezisin başlaması için gerekli olduğunu gösterir (18,56).

VEGF–165

Heparine zayıf bağlanabilen 165 aminoasitten oluşan glikoprotein formudur. VEGF–121'e göre daha fazla pro-inflamatuar özelliğe sahiptir ve intravitreal patolojik damar oluşumunda rol aldığı ispatlanmıştır. Yine VEGF–189 ile birlikte damar gelişimi aşamalarının matürasyon ve yeniden yapılanma (remodeling) aşamalarında görev alır (18,56).

VEGF–189

Hücre ile ilgili olan ve heparine bağlanabilen formu olup endotelial hücre migrasyonu ve adezyonu için gerekli ve 189 aminoasitten oluşan formudur. Görüldüğü gibi farklı VEGF formları damar gelişiminin farklı aşamalarında görev almaktadır. Farelerde yapılan çalışmalarda sadece VEGF- 120 (insan VEGF–121'in analogu) sentezlendiğinde retinal damar gelişiminin başladığı ancak damar yapılarının bütünlüğünü koruyamadığı izlenmiştir. Diğer taraftan postpartum 6–12. günlerde 189 ve 165 düzeylerinin artması damar olgunlaşması ve yeniden yapılanma (remodeling) için önemini göstermektedir. Yine hipoksi-hiperoksi atağında ilk olarak 121'in artması ancak tekrarlayan ataklarda 165 ve 189 düzeylerinde yükselme olması

ROP gelişiminin farklı aşamalarında farklı VEGF formlarının görev aldığını göstermektedir (18,56).

VEGF etkisini esas olarak tirozin kinaz özelliği gösteren 2 reseptör üzerinden yapar (28,60).

Bunlar:

Flt-1(VEGFR-1): Tirozin kinaz özelliği gösterir. Sadece VEGF-A' yı bağlayabilir. Fonksiyonu tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Membrana bağlı ve çözünür olan iki farklı varyantı bulunduğu ve bunlardan çözünür olan varyantının (sflt-1) VEGF etkilerini nötralize ettiği sanılmaktadır. VEGF'e VEGFR-2'ye göre 10 kat daha fazla affinite gösterir (1,8,17,18,36,45,60,65,78).

flk-1/KDR (fetal liver kinaz) (VEGFR-2): VEGF-A ve VEGF-C' yi bağlayabilir. VEGF intrasellüler etkilerini bu reseptör üzerinden gösterir. VEGF, KDR üzerinden mitojen aktive eden proteini (MAP) aktive edip hücreyi G fazından S fazına geçirir. Doğum sonrası dönemde flk-1 sentezlenmesi belirgin düzeyde azalır, sadece araya giren patolojik durumlarda seviyesinde yükselme görülür. Embriyonel dönemde damarların yaşamını sürdürmesi ve olgunlaşması aşamalarında büyük rol oynar.

Her iki reseptörden de birinin eksik olması damar yapısının bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır (8,17,18,36,60,65,78).

VEGF'nin anjiogeneziste bu kadar etkili olmasına rağmen yapılan çalışmalarda IGF-1 ortamda olmadığında etkisinin azaldığı hatta durduğu tespit edilmiştir (50,57).

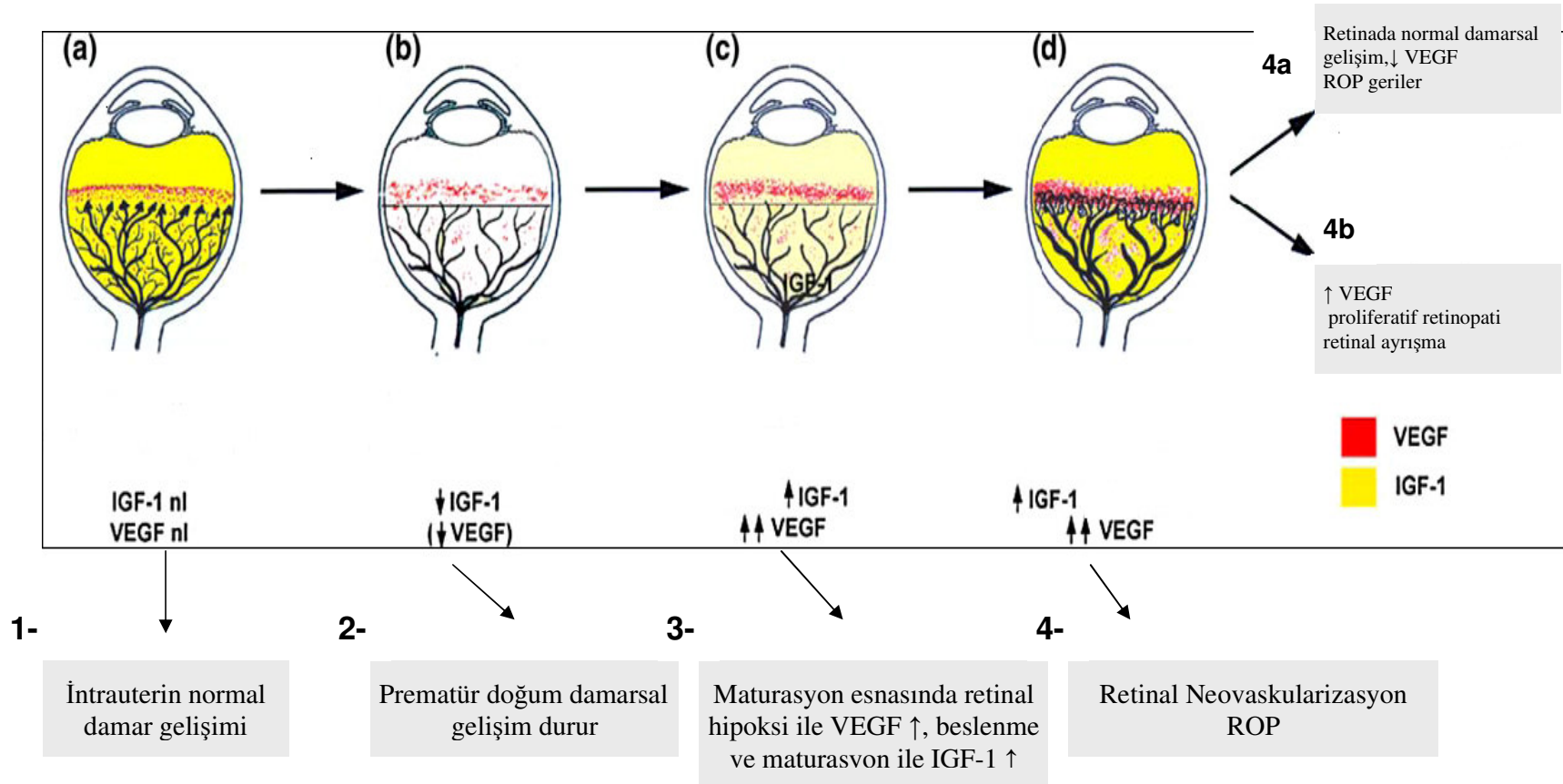
IGF-1:

IGF-1 7 kilodalton ağırlığında 70 aminoasitten oluşan peptid yapılı bir hormondur. Hem fetal dönemde hem de çocukluk döneminde normal gelişmede

görev alır. Hücresel metabolizmada rol oynadığı gibi hücreler için proliferatif ve anti-apoptotik özelliğe sahiptir. Ortamda insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 (IGFBP-3) adı verilen proteine bağlı dolaşır. Reseptörleri tirozin kinaz özelliği gösterir. Reseptörler aktive olduğunda hücre içinde protein fosforilasyonuna neden olup hücrede mitogenezi uyarır (21,26,42,49).

IGF-1 düzeyi 30-33. gestasyon haftasında amnion sıvısında artar. Bu dönem kan damarlarının göz, beyin ve diğer organlarda maturasyonunun tamamlandığı önemli bir dönemdir. IGF-1'in fetal dönemdeki başlıca kaynakları plasental dokular ve bebeğin yuttuğu amnion sıvısıdır. Fetal ağırlıkla doğru orantılı olarak amnion sıvısındaki seviyesi yükselir. Doğum sonrası bu dokuların ortamdaki uzaklaşması ile birlikte IGF-1 düzeyinde düşme yaşanır. Özellikle de düşük ağırlıklı bebeklerde yani prematürelde bu düşme daha belirgin olarak gözlenir. Farelerde yapılan çalışmalarda IGF-1'in seviyesinin düşük olması ile retinal kan damarlarının maturasyonunun durakladığı izlenmiştir (31,32,52). Retinanın avasküler kalması (faz-1) ve daha sonra artan hipoksi nedeni ile ortamda VEGF birikir ve beslenme ile IGF-1 düzeyi artar. IGF-1 düzeyinin eşik değerini geçmesi ile birlikte VEGF etkisini gösterir ve retinada anormal bir vaskülogenezis başlar ve bu süreç ROP gelişimi ile sonuçlanır (şekil-1)(32).

VEGF ve IGF-1' in nasıl sinerjik etki gösterdiği halen araştırılmakla beraber her ikisinin birlikte olduğu zaman tirozin kinaz reseptörlerinin aktivasyonuna neden oldukları sanılmaktadır (32).



Şekil-1: VEGF ve IGF-1'in ROP üzerine etkisi

IGFBP3:

Bazik peptid yapıdaki IGF' ler plazmada IGF bağlayıcı proteinler (IGFBP) ile taşınır. Şimdiye kadar 6 adet IGF bağlayıcı protein tanımlanmıştır. Plazmada dolaşan IGFBP' lerin %75'ini IGFBP-3 oluşturur ve IGF-1'lerin %70-90'ı IGFBP-3 tarafından taşınır. IGFBP-3 150 kDalton ağırlığında karmaşık bir proteindir. Postnatal dönemde en önemli taşıyıcı proteindir. Başta hepatositler olmak üzere birçok doku tarafından sentezlenir. IGFBP, IGF'lerin yarılanma ömrünü uzatmaktadır. IGF-1'in yarılanma ömrü 30 dakika iken IGFBP' ye bağlandığında yarılanma ömrü 12-15 saate kadar uzamaktadır (23,24).

IGF'ler hücre yüzeyindeki reseptörlerine bağlandıklarında hücrelerde proliferasyonu uyarır ve hücrelerde apoptozisi inhibe eder. IGFBP ise hücrelerde apoptozisi uyarak IGF-1'in mitojenik etkisini inhibe ederek, antiproliferatif etki gösterir. Ayrıca IGFBP-3'ün hücre kültürlerinde IGF-1 olmadan DNA sentezini inhibe ettiği bu sayede hücre replikasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. ROP ile ilgili çalışmalarda IGFBP-3 seviyesinin yükselmesinin retinal neovaskülarizasyonu inhibe ettiği ve normal damarsal gelişimi sağladığı tespit edilmiştir. Yine postmenstruel 30-35 haftalarda IGFBP-3 seviyesi düşük olan prematür bebeklerde ROP sıklığı artmış olarak bulunmuştur (51,66).

Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksit oksijen varlığında L-argininden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenir (46).



NO, dayanıksız ve gaz yapısında bir serbest radikaldir. Yarılanma ömrü 3–6 saniyedir. Üretilen NO'nun büyük çoğunluğu hemoglobine bağlı olarak bulunur. Bu bağlanma geridönüşümsüz olup oksihemoglobin şeklinde dolaşımda bulunur. NO'nun hemoglobine bağlanması hemoglobinin oksijen taşıma kapasitesini azaltmaz, tersine hemoglobin(Hb) oksijenize halde iken NO bağladığında oksijeni dokulara daha kolay transfer edebilmektedir. Oksijenini dokulara verdikten sonra NO-Hb birlikteliği methemoglobin olarak adlandırılır. Methemoglobin methemoglobin redüktaz tarafından Hb ve nitrite ve sonra nitrate dönüşür. Bu nedenle kanda nitrat nitrite göre daha fazla bulunur. Her ikisinin de biyolojik aktivitesi yoktur, ancak NO göstergesi olarak kullanılabilir. NO oksijenle karşılaştığında süperoksid dismutaz (SOD) ile birlikte reaksiyona girip peroksinitrite dönüşür. Oluşan peroksinitrit NO'ya oranla daha yavaş reaksiyona girer ve membranlardan daha kolay geçerek hücre hasarına neden olan güçlü bir oksidan olma özelliği gösterir (46,81).

NO sentezi hipoksi, vazospazm ve anemi durumlarında artar. Hipoksinin arttırdığı VEGF ortamda endotelial NOS (eNOS) düzeyini artırarak NO üretimini artırır (3,4,29,37,47,59,82,90).

NO' nun Fizyopatolojik Etkileri

NO sepsisten damar tonüsü ayarlanmasına ve ROP oluşumuna kadar birçok yerde etkili olmaktadır.

Kardiyovasküler Sistem

Kan basıncının düzenlenmesi arteriyel ve arterioller endotelden devamlı, bazal düzeyde NO salınımı ile sağlanmaktadır. Bu şekilde adrenerjik sistemin neden olduğu vazokonstriktör tonusa karşıt devamlı bir vazodilatasyon sağlanmaktadır. Kan

akımında, vasküler dirençte meydana gelen değişiklikler NO sentezinde, özellikle de eNOS üzerinde belirleyici olmaktadır (37,81).

Anjiogenezis

Yapılan çalışmalar ile anjiogenik faktörlerin NOS enzim sistemini stimüle ettiği belirlenmiştir. VEGF, insan umbilikal ven endotel hücrelerinden NO salınımını artırmaktadır. Aynı zamanda NOS üretimini arttırmaktadır. NO ve VEGF' nin ortak regüle edildiği sanılmaktadır, çünkü VEGF flk-1/KDR reseptörü üzerinden NO sentezini arttırırken ortamda artan NO ise aktive fosfokinaz-1 (AP-1) üzerinden VEGF sentezini baskılayıcı etki yapar. Farelere NO sentaz inhibitörü olan L-NNA verildiğinde oksijenli ortamda VEGF'nin daha az baskılandığı ve hipoksik ortamda daha fazla arttığı görülmüştür (9,59,61,70).

ROP Gelişimini Etkileyen Diğer Faktörler

a) Anne Sütü Kullanımı:

Anne sütünün içinde bol miktarda anti-oksidan, vit-E, büyüme faktörleri ve beta-karoten olması nedeni ile ROP sıklığını azalttığı düşünülmektedir. Ayrıca IGF-1 anne sütünün içinde bol miktarda bulunmaktadır. Retinal vaskülarizasyon için en önemli faktörlerden biri olan IGF-1 besinsel kaynaklıdır ve prematüre bebeklerde de doğumda gastrointestinal gelişim tam olmadığı için enteral beslenmeye geç başlanır. Bu da prematürelerde IGF-1 düzeyinin düşük olmasına neden olur. Anne sütüne erken başlanması ile IGF-1 açığı kısmen de olsa kapatılarak retinanın hipoksiden etkileniminin azaltılması mümkündür (33).

b) Vitamin E Kullanımı:

Başlarda Vit-E'nin antioksidan olmasından dolayı ROP gelişimini azalttığı ifade edildiyse de daha sonra yapılan çalışmalar göstermiştir ki dışarıdan Vit-E replasmanı

yapılması ROP sıklığını değiştirmemekte ancak ileri evre ROP görölme sıklığını azaltmaktadır. Vit-E anti-oksidan olması nedeni ile immatür retinanın hipoksi-hiperoksi atakları sırasında oluşan serbest radikallerden daha az etkilenmesini sağlar (43).

c) Steroid Kullanımı

Gebeliğin 23–34. haftalarında antenatal steroid uygulamasının ROP gelişimini azalttığına dair yayınlar vardır. Kortikosteroidlerin retinal damar gelişimini hızlandırdığı ve damar stabilitesini sağladığı ayrıca akciğer matürasyonunu sağlamak yolu ile oksijen tedavisini azaltarak bu etkiyi yaptığı düşünölmektedir.

Postnatal steroid kullanımının ROP üzerine etkisine dair veriler çelişkilidir. Prematüre bebeklerde steroid kullanımı ile kronik akciğer hastalığı, ventilatör ihtiyacı ve bunlara bağlı oksijen destek tedavi ihtiyacı azalacağından ROP sıklığı azalabilir ancak postnatal dönemde steroidler damar gelişiminde yavaşlamaya neden olacağından ROP sıklığını arttırıcı etkileri de olabilir (30,86).

d) Işığa Maruziyet

ROP ilk tanımlandığı dönemlerde ışığın ROP'a neden olduğu öne sürölmüş ancak son dönemde yapılan çalışmalar bunu doğrulamamıştır (7).

e) Anemi ve Eritrosit Transfüzyonu

Prematüre bebeklerde hızlı büyüme, eritropoezin yetersiz olması, laboratuvar tetkikleri için sık kan örneklerinin alınması ve prematüre eritrosit ömrünün term bebeklere göre daha kısa olması gibi nedenlerden dolayı yaşamın ilk aylarında anemi oluşur (13). Bu bebeklerde hemodinamik ve solunumsal dengeyi korumak için kan transfüzyonlarına ihtiyaç duyulur (84). Tam olarak ispatlanmamakla birlikte yapılan çalışmalarda anemi ve bu nedenle dokularda oluşacak olan hipoksiye bağlı

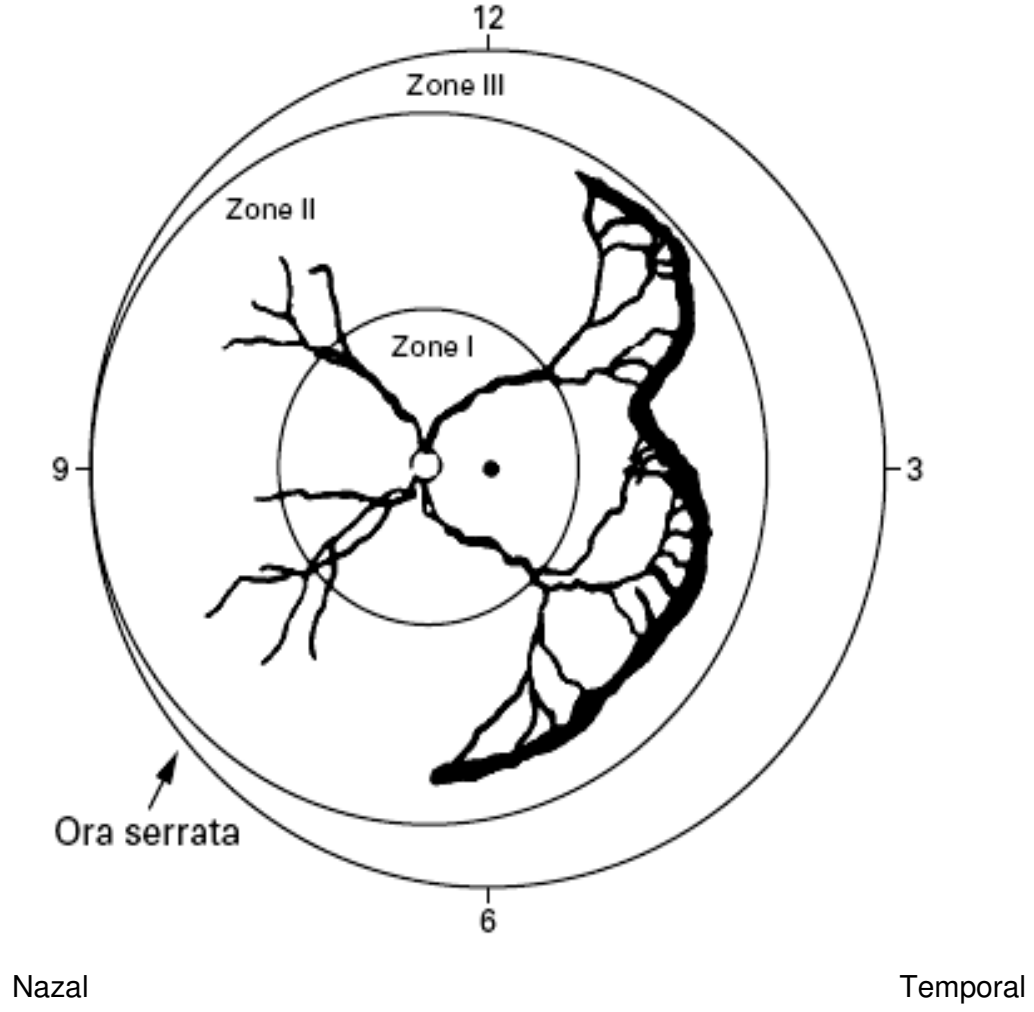
olarak ROP riskinin arttığı ileri sürülmektedir. Diğer taraftan yetişkin hemoglobininin fetal hemoglobine göre oksijen afinitesinin daha az olması nedeniyle transfüzyon sonucu dokularda artan oksijen ve tekrarlayan transfüzyonlara bağlı ortamda biriken demirin serbest radikal artmasına neden olarak damar duvarlarında hasarlanmaya neden olabileceği de ileri sürülmektedir (5,11,12,15,25,40,53,67). Ayrıca eritrosit transfüzyonlarının gerek oluşturdukları hiperoksik ortam nedeni ile gerekse eritrositlerde bulunabilecek mediatörler ile bebeklerde serum VEGF, IGF-1, IGFBP3 ya da NO düzeylerini etkilemeleri olasıdır (39). Ancak eritrosit transfüzyonlarının bu etkisi araştırılmamıştır.

ROP'UN SINIFLANDIRILMASI

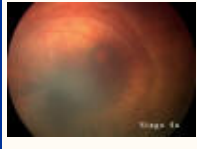
İlk ROP sınıflaması 1984' de yapılmıştır ve bazı değişiklikler ile birlikte halen kullanılmaktadır.

ROP şiddetinin ve ciddiyetinin belirlenmesinde göz dibi optik diskten uzaklığına göre üç zona ayrılır. Zon-1 optik diske en yakın olan bölge olup damarlanmasını 28-32. gebelik haftasında tamamlar. Zon-2 36. gebelik haftasında ve nihayet Zon-3 40. haftada damarlanmasını tamamlar. Bu nedenle ROP en fazla Zon-2 ve 3 te görülür (Şekil-2)(41,69,80).

Şekil-2: Retinada ROP gelişen bölgeler



Neovaskülarizasyonun derecesine göre ROP 5 evreye ayrılır:

Evre- 1	Demarkasyon hattı. Düz, beyazımsı, keskin kenarlı, ince hat olarak vasküler ve avasküler retinayı birbirinden ayırır.	
Evre- 2	Demarkasyon hattında öne doğru kabarıklık oluşması (Demarkasyon hattı 3 boyutlu olmuştur)	
Evre- 3	Demarkasyon hattından fibrovasküler proliferasyon başlaması ve vitröz boşluğa doğru uzanması.	
Evre- 4	Retinada kısmi ayrılma olması	
	4A: Makulayı içermeyen retinal ayrılma	
	4B: Makulayı içeren retinal ayrılma	
Evre- 5	Retinal tam ayrılma	
Plus Hastalığı	Retinanın arka kutbundaki damarlarda dilatasyon ve tortiyosite varlığıdır. Bu ciddi hastalık ve kötü prognoz ile ilişkilidir.	
	Pre-Plus hastalığı: Retinal arterlerde tortiyosite ve venlerde dilatasyon normale göre fazla ancak plus hastalığı sınıflaması için yetersiz.	
	"Rush" hastalığı (Agresif Posterior ROP, AP-ROP): Damarların artmış tortiyosite ve dilatasyonu zon-1'in 4 kadranında ve bazen de zon-2'de görülen nadir, ciddi ROP formudur. Evre 1 den 3' e ilerlemez ancak hızlıca evre 4-5'e geçer.	

TANI

Amerikan Pediatri Akademisi, Oftalmoloji Derneğinin kriterlerine göre 1500 gr'ın ve 28 haftanın altında olan ya da 1500 gr'ın üzerinde olup da riskli olan tüm bebekler göz bebeği dilate edilerek pediatrik oftalmolog tarafından muayene edilmelidir. Diğer taraftan Royal Collage of Ophthalmologists ve British Association of Prenatal Medicine ise 1500 gr'ın altında ve 31 haftadan küçük tüm çocukların taranmasını önermektedir.

ROP'ta ilk tarama zamanı ne zaman olmalıdır? Bunun için ortak görüş ilk muayenenin post konsepsiyonel 31–33. haftalarda ya da doğum sonrası 4–6. haftalarda (hangisi daha geç ise) yapılması yolundadır (77).

TEDAVİ

1. ROP gelişimini önleyici tedavi: Antenatal steroid kullanımı, hipoksi-hiperoksi ataklarının azaltılması, antioksidan kullanımının yaygınlaşması (önlemese de skorunu azaltır), prematüre bebeklerde anne sütüne erken başlanması, belki de en önemlisi prematüre doğumların mümkün olduğu kadar azaltılması.

2. İlerlemeyi Durdurucu Tedavi: Avasküler retinanın kriyoterapi veya fotokoagulasyon yolu ile ablasyonudur.

Evre 4- 5' te retina dekolmanı gelişmiş bebeklerde ise vitrektomi yapılmaktadır. Bunun amacı daha ziyade kozmetik amaçlıdır. Zira fonksiyonel düzelme sağlamamaktadır (83).

PROGNOZ

ROP erken aşamada tedavi edilirse genelde yüz güldürücü iken ileri aşamada ya da plus hastalığında ise genelde körlükle sonuçlanmaktadır. Bunun yanı sıra gerileyen

ROP'lu hastalarda ileri yaşlarda miyopi, görme keskinliğinde azalma, şaşılık ve glokom daha sık görülmektedir (68).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi (GÜTF) Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde Ocak 2005 ile Haziran 2007 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmaya değişik nedenlerle yenidoğan yoğun bakım servisine yatan eritrosit transfüzyonu alan ve prematüre retinopatisi gelişme olasılığı olan gestasyon yaşı 34 haftanın altında olan bebekler alındı. Çalışma GÜTF hastanesi etik kurulunca onaylandı. Çalışmaya alınan bebeklerin hepsinden 3. günden sonra eritrosit transfüzyonundan önce ve transfüzyondan 30 dakika sonra NO, VEGF, IGF-1 ve IGFBP-3 için ikişer mililitre kan örnekleri alındı. Alınan örnekler 3500 devirde 5 dakika santrifüj edilip serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar ependorf tüplerine konulup -80°C'de saklandı. Aynı bebekten en fazla 3 kez transfüzyon öncesi ve sonrası kan alındı. Bebeklerin tümüne önceden belirlenen standartlara göre ROP muayenesi yaptırıldı. Çalışmaya alınan hastaları takip için form hazırlandı (Ek-1).

Nitrik Oksit düzeyinin Ölçümü

Nitrik oksitin yarılanma ömrünün kısa olması nedeni ile metaboliti olan nitrit (NO_2) ve nitrat (NO_3) düzeylerinin ölçümü dolaylı olarak NO değerini vermektedir. Nitrit ve nitrat düzeylerinin tayini için Miranda ve arkadaşları tarafından geliştirilen Greiss yöntemi kullanılmıştır (58). Çalışma günü serum örnekleri oda sıcaklığında çözünmeye bırakıldı ve çözündükten sonra protein denatürasyonu için etanol eklenerek, 4°C'de 14000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj edilmiş örneklerden 100 µl alınıp Elisa plaklarına kondu. Üzerine 100 µl Vanadium eklenip 1dakika beklendi. Daha sonra 50 µl naftilendiamine dihidraklorür (NEDD) ve 50 µl

sulfanilamid (SULF) eklendi. Eliza plakları 37 °C'de 30 dakika bekletildikten sonra 540 dalga boylu spektrofotometrede köre karşı okutuldu. Sonuçlar $\mu\text{mol/l}$ olarak elde edildi (85).

Serum VEGF Düzeyi Ölçümü

Serum VEGF–165 düzeyleri, ticari bir sandviç ELISA kiti (Human VEGF–165 Ctyelisa, Biosource International, Inc. 542 Flynn Road Camarillo, California) kullanılarak üretici firma talimatları doğrultusunda ölçüldü. Kit prospektüsünde sensitivitesinin $< 5 \text{ pg/ml}$ olduğu belirtilmişti. Çalışma günü serum örnekleri oda sıcaklığında çözünmeye bırakıldı ve çözündükten sonra vortekslenerek homojenize edildi ve ELISA çalışmalarında kullanıldı.

VEGF ELISA çalışması şu şekilde gerçekleştirildi:

96 çukurlu düztabanlı, anti-VEGF kaplı mikropiğin tüm çukurlarına 50 μl enkübasyon sıvısı dağıtıldıktan sonra üzerine uygun çukurlara, 100 μl /çukur olacak şekilde standardlar, kontroller veya serum örnekleri eklendi. Plak kapatılıp oda sıcaklığında 2 saat bekletildi. Daha sonra otomatik ELISA yıkayıcısı kullanılarak her seferinde 250 μl /çukur yıkama solüsyonu kullanılarak plak 4 kez yıkandı. Daha sonra tüm çukurlara 100 μl anti- VEGF(Biotin Conjugate) eklendi, plak oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. Tekrar yukarıda belirtildiği şekilde 4 kez yıkanan piğa, 100 μl /çukur Streptavidin–HRP solüsyonu eklendi. Piğin üzeri kapatılıp 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra plak 4 kez yıkandı. Tüm çukurlara 100 μl stabilize kromojen eklenip, karanlıkta 30 dakika bekletildikten sonra; 100 μl /çukur stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Daha sonra plak 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ELISA okuyucusu ile değerlendirildi. Elde edilen optik dansite (OD) değerleri bir bilgisayar istatistik programı olan Microsta kullanılarak

regresyon-korelasyon analizi ile değerlendirildi: Konsantrasyonu bilinen standartların O.D. değerleri kullanılarak serum örneklerinin O.D. değerlerinden VEGF konsantrasyonları hesaplandı (p : <0,00001, r : 0,9968–9965 ve r^2 : 0,9937–0,9930).

Serum IGF–1 Düzeyi Ölçümü:

Serum IGF–1 düzeyi ticari bir ELISA kiti (Biosource Human IGF–1 Ctyelisa, Biosource, Rue de l'Industrie 8, B–1400 Nivelles; sensitivitesi 4.9ng/ml) kullanılarak ölçüldü. Çalışma günü serum örnekleri oda sıcaklığında çözünmeye bırakıldı ve çözüldükten sonra vortekslenerek homojenize edildi ve ELISA çalışmalarında kullanıldı.

IGF–1 ELISA çalışması şu şekilde gerçekleştirildi:

Her serum örneği için ekstraksiyon ve nötralizasyon için ayrı ayrı olmak üzere 2 adet ependorf tüp hazırlandı. Her ekstraksiyon tüpüne 50 µl serum konduktan sonra üzerine 400 µl kit içeriğinde bulunan ekstraksiyon solüsyonu eklenerek oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Daha sonra ekstraksiyon tüpü 12.000 devirde +4C°'de 2 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası, tüpün dibindeki pellete dokunmadan, üst kısımdaki sıvıdan 100 µl alındı ve nötralizasyon tüpüne aktarıldı, üzerine 50 µl kit içeriğinde bulunan nötralizasyon solüsyonu ve 100 µl örnek çözücü ilave edildi; hafifçe vortekslenen ependorf tüpünün dibindeki pellete dokunmadan, üst kısımdaki sıvıdan 25 µl alınarak anti-IGF–1 kaplı, 96 çukurlu, düz tabanlı mikroploğa aktarıldı. Uygun çukurlara standartlar ve kontroller 25 µl/çukur olarak konuldu. Her çukura 100 µl konjugat (anti-IGF–1 antikoru) eklendikten sonra plak oda sıcaklığında 90 dakika bekletildi. Otomatik ELISA yıkayıcısında 250 µl/çukur yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkanan plağa 100 µl/çukur kromogen/substrat eklendikten sonra

oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Daha sonra reaksiyon 100 µl/çukur stop solüsyonu ile durduruldu. Plak 405 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ELISA okuyucusu ile değerlendirildi. Elde edilen optik dansite (OD) değerleri bir bilgisayar istatistik programı olan Microsta kullanılarak regresyon-korelasyon analizi ile değerlendirildi: Konsantrasyonu bilinen standartların O.D. değerleri kullanılarak serum örneklerinin O.D. değerlerinden IGF-1 konsantrasyonları hesaplandı (p: 0,00017–0,00027, r: 0,9762–0,9709 ve r^2 : 0,9529–0,9426).

IGFBP-3 Ölçümü

Serum serbest IGFBP-3 düzeyi ticari bir ELISA kiti (Biosource Human IGFBP-3 Ctyelisa, Biosource, Rue de l'Industrue 8, B-1400 Nivelles; sensitivitesi 10,5 ng/ml) kullanılarak ölçüldü. Çalışma günü serum örnekleri oda sıcaklığında çözünmeye bırakıldı ve çözündükten sonra vortekslerenek homojenize edildi ve ELISA çalışmalarında kullanıldı.

IGFBP-3 ELISA çalışması şu şekilde gerçekleştirildi:

Serum örnekleri anti-IGFBP-3 kaplı, 96 çukurlu düztabanlı mikropolağa 100 µl/çukur olarak dağıtıldı. Uygun çukurlara standartlar ve kontroller konuldu. Daha sonra 100 µl/çukur konjugat (anti- IGFBP-3 antikoru) dağıtıldı. Oda sıcaklığında 90 dakika bekletilen plak, otomatik ELISA yıkayıcısında, yıkama solüsyonu ile 250 µl/çukur olarak, 3 kez yıkadı. Tüm çukurlara 100 µl kromojen/substrat eklendi ve plak oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Daha sonra reaksiyonu durdurmak için 100 µl/çukur stop solüsyonu eklendi. Plak 405 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ELISA okuyucusu ile değerlendirildi. Elde edilen optik dansite (OD) değerleri bir bilgisayar istatistik programı olan Microsta kullanılarak regresyon-korelasyon analizi ile değerlendirildi: Konsantrasyonu bilinen standartların O.D. değerleri

kullanılarak serum örneklerinin O.D. değerlerinden IGF-1 konsantrasyonları hesaplandı (p: 0,00005–0,00004, r: 0,9947–0,9942 ve r^2 : 0,9894–0,9885).

Retinopati Muayenesi

Amerikan Pediatri Akademisi, Oftalmoloji Derneğinin kriterlerine göre 1500 gr'nin ve 28 haftanın altında olan ve 1500 gr'nin üzerinde olup da riskli tüm bebekler ROP gelişimini araştırmak üzere muayene edildi. Muayene, ROP kriterlerine uyan tüm bebeklerde post konsepsiyonel 31–33. haftada ya da doğum sonrası 4–6. haftada (hangisi daha geç ise) yapıldı. Muayene öncesi bebeklerin gözlerini dilate edebilmek için %1.25 lik fenilefrin ve % 5 lik sikloplejin yarı yarıya sulandırılıp muayeneden 1 saat önce 5' er dakika ara ile her iki göze damlatıldı ve yenidoğan yoğun bakım ünitesinde pediatrik oftalmolog tarafından indirekt fundoskopi ile muayene yapıldı.

İstatistik

İstatistiksel analiz SPSS 11,5 programı kullanılarak yapıldı.

Veriler üzerinde ilk olarak normal dağılıma uygunluk testi yapıldı. Normal dağılıma uygun olmayan verilerde NO, VEGF, IGF-1 ve IGFBP-3'ün eritrosit transfüzyonu öncesi ve sonrası fark olup olmadığı Wilcoxon testi, uygun olanlarda paired t test kullanılarak değerlendirildi, $p < 0.05$ olanlar anlamlı olarak kabul edildi.

Değişkenlerin tek tek ROP üzerine etkilerini göstermek için lojistik regresyon analizi (Backward LR) yapıldı. Lojistik regresyon analizi öncesi modele hangi değişkenlerin alınacağını belirlemek için nominal değişkenlerde Fisher exact test, sürekli değişkenlerde Mann Whitney U testi uygulandı, $p < 0,05$ ile $p \leq 0,20$ olanlar modele alındı ve $p < 0,05$ olan değerler anlamlı olarak kabul edildi.

Verilerin kesme noktasını, duyarlılık ve özgüllüklerini belirlemede Roc Curve analizi kullanıldı.

Çoklu grup karşılaştırmalarında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Anlamlılık testi olarak Bonferroni yapıldı.

ROP olan ve olmayan grupların kendi aralarında karşılaştırılmalarında Mann Whitney U testi kullanıldı.

Değişkenler arasındaki ilişkilerin varlığını belirlemek amacıyla Pearson Momentler Çarpımı ile Korelasyon analizi yapıldı.

Bulgularda değerler aksi belirtilmedikçe ortalama $\pm$ Standard Dağılım olarak verilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya toplam 33 prematüre bebek alındı. Üç bebek eksitus olması nedeni ile çalışmadan çıkartıldı. Çalışmaya alınan bebeklerin; 9' u (%30) kız, 21' i (%70) erkek, ortalama gestasyon yaşları $29,82 \pm 2,52$ (Aralık: 26–34) hafta, doğum ağırlıkları ortalama $1236,53 \pm 428,12$ gr (Aralık: 613–2400 gr) olarak tespit edildi. Ortalama 4 ± 3 (Aralık: 1–13) kez eritrosit transfüzyonu yapıldı. Ancak bebeklerin prematüre ve düşük doğum ağırlıklı olmaları nedeni ile aynı bebekten en fazla 3 kez transfüzyon öncesi ve sonrası kan örneği alındı. Olgularda mekanik ventilasyon süresi $6,5 \pm 7,8$ (Aralık: 0–28) ve serbest oksijen tedavi süresi ortalama $29,9 \pm 30,3$ (Aralık: 0–109) gün olarak tespit edildi (Tablo–I).

Tablo–I: Hastaların demografik dağılımı

	Ortalama $\pm$ Standard Sapma (aralık)
GY (hafta)	$29,82 \pm 2,52$ (26–34)
Doğum ağırlığı (gr)	$1236,53 \pm 428,12$ (613–2400)
Ventilasyon süresi(gün)	$6,5 \pm 7,8$ (0–28)
Oksijen alma süresi(gün)	$29,9 \pm 30,3$ (0–109)
Eritrosit transfüzyon sayısı	4 ± 3 (1–13)

GY: gestasyon haftası

Örneklerin alınma yaşı tablo–II de belirtilmiştir.

Tablo–II: Çalışmaya alınan bebeklerden numunelerin alınma günleri

	n	Örnek alma yaşı (gün) Ortalama $\pm$ Standard Sapma (Aralık)
1. örnek	30	$12,86 \pm 10,49$ (3–40)
2. örnek	16	$18,5 \pm 10,48$ (6–44)
3. örnek	11	$26,81 \pm 15,7$ (9–58)

n: olgu sayısı

Çalışmaya alınan hastaların 17'sinde (%56,7) ROP tespit edildi. ROP' lu bebeklerin 11' inde (%64,7) evre-1, 5'inde (%29,4) evre-2, 1' inde (%5,9) evre-3 ROP vardı. ROP' lu hastaların kız/erkek oranı 5/12 idi, çalışmaya alınan hastaların 13' ünde (%43,3) sepsis gelişti (Tablo-III).

Tablo-III: ROP olan ve olmayan hastaların demografik dağılımı

ROP	Cins (K/E)	GY (hafta)	Doğum Ağırlığı (gr)	Transfüzyon Sayısı	Sepsis	Ventilasyon Günü	Oksijen Aldığı Gün
ROP (-) n: 13	4/9	30,7 ± 2,7 (26,2–34)	1452,33±504,61 (718,0–2400,0)	3 ± 2 (1–10)	Yok:10 Var: 3	2,7 ± 4,4 (0–16)	21,4±28,2 (0–104)
ROP (+) n: 17	5/12	29,1 ± 2,2 (26–33)	1092,66±305,14 (613,0–1610)	5 ± 3 (2–13)	Yok: 7 Var:10	9,4 ± 8,6 (0–28)	39,6±28,9 (9–109)
evre-1:11 evre-2: 5 evre-3: 1							
p	-	0,035	0,183	0,006	-	0,031	0,0001

ROP: prematüre retinopatisi, gr: gram, n: Olgu sayısı, K: Kız, E: Erkek, GY: gestasyon haftası

ROP üzerine etkili değişkenlerden: NO, VEGF, IGF-1, IGFBP3 düzeylerinin her 3 eritrosit transfüzyonu öncesi ve sonrasında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde değişmediği görüldü ($p>0,05$)(Tablo-IV,V).

Tablo–IV: NO ve VEGF’ nin eritrosit transfüzyonu öncesi ve transfüzyon sonrası değerlerinin karşılaştırılması.

Değişkenler	Yaş(gün)	N	Ortalama ± SD (µmol/l)	p
NO–1. Transfüzyon	12,86			0,746
Transfüzyon Öncesi		30	12,39 ± 13,03	
Transfüzyon Sonrası		30	14,41 ± 18,75	
NO–2 . Transfüzyon	18,5			0,940
Transfüzyon Öncesi		23	15,45 ± 19,68	
Transfüzyon Sonrası		16	14,75 ± 13,26	
NO–3 . Transfüzyon	26,81			0,116
Transfüzyon Öncesi		11	17,40 ± 14,05	
Transfüzyon Sonrası		11	16,80 ± 14,82	
Ortalamlar (pg/ml)				
VEGF–1 . Transfüzyon	12,86			0,792
Transfüzyon Öncesi		30	809,22 ± 581,07	
Transfüzyon Sonrası		30	839,70 ± 687,49	
VEGF–2 . Transfüzyon	18,5			0,483
Transfüzyon Öncesi		16	897,91 ± 770,78	
Transfüzyon Sonrası		16	1033,46 ± 629,99	
VEGF–3 . Transfüzyon	26,81			0,555
Transfüzyon Öncesi		11	970,41 ± 676,17	
Transfüzyon Sonrası		10	1176,55 ± 714,46	

NO: Nitrit Oksit, VEGF: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

Tablo–V: IGF–1 ve IGFBP3’ün eritrosit transfüzyonu öncesi ve transfüzyon sonrası değerlerinin karşılaştırılması.

Değişkenler	Yaş (gün)	n	Ortalamalar (ng/ml)	p
IGF-1–1.Transfüzyon	12,86			
Transfüzyon Öncesi		27	32,78 ± 71,73	0,270
Transfüzyon Sonrası		27	47,68 ± 78,54	
IGF-1–2.Transfüzyon	18,5			
Transfüzyon Öncesi		15	67,62 ± 91,37	0,528
Transfüzyon Sonrası		15	91,68 ± 125,66	
IGF-1–3.Transfüzyon	26,81			
Transfüzyon Öncesi		9	21,08 ± 55,73	0,179
Transfüzyon Sonrası		10	72,26 ± 94,09	
IGFBP-3–1.Transfüzyon	12,86			
Transfüzyon Öncesi		26	1134,34 ± 597,11	0,110
Transfüzyon Sonrası		25	1313,42 ± 664,15	
IGFBP-3–2.Transfüzyon	18,5			
Transfüzyon Öncesi		16	1307,72 ± 828,17	0,330
Transfüzyon Sonrası		15	994,47 ± 537,11	
IGFBP-3–3.Transfüzyon	26,81			
Transfüzyon Öncesi		11	1262,40 ± 430,18	0,513
Transfüzyon Sonrası		11	1397,55 ± 724,69	

IGF-1:İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü–1,IGFBP3:İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein-3

Mediatörlerin bebeklerin doğum sonrası yaşlarına göre zaman içindeki değişimlerinin değerlendirilmesi açısından ölçülen değerlerin birbirleriyle karşılaştırılması yapıldı; NO, VEGF, IGF–1, IGFBP3 değerlerinin zaman içinde anlamlı değişiklik göstermediği görüldü.

Ölçülen mediatörlerin değerlerinin ROP ile ilişkisi bebekler ROP olan ve olmayan olgular olarak 2 gruba ayrılarak incelendi. ROP(+) ve ROP(-) bebeklerin gerek transfüzyon öncesi gerekse transfüzyon sonrası mediatör değerleri arasında 2. transfüzyon öncesi alınan NO değerleri dışında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

ROP olmayan olguların 2. ve 3. transfüzyon sonrası alınan numuneleri sayıca yetersiz olduğundan bu dönemlere ilişkin istatistiksel değerlendirme yapılamadı. Karşılaştırma yalnızca 1. eritrosit transfüzyon dönemine ait örneklerle yapıldı (Tablo-VI, VII).

Tablo-VI: ROP olan ile olmayan olguların transfüzyon öncesi NO, VEGF, IGF-1 ve IGFBP3 değerlerinin karşılaştırılması

Değişkenler	ROP Olan Olgular			ROP Olmayan Olgular			
	Yaş(g)	n	Ortalama $\pm$ SD	Yaş(g)	n	Ortalama $\pm$ SD	p
NO-1.Transfüzyon	12,86	17	12,65 $\pm$ 10,69	12,86	13	12,07 $\pm$ 16,06	0,586
NO-2.Transfüzyon	18,5	15	22,43 $\pm$ 21,11	18,5	10	2,37 $\pm$ 5,12	0,002
NO-3.Transfüzyon	26,81	10	17,80 $\pm$ 14,74	26,81	1	13,40 $\pm$ 0	-
VEGF-1.Transfüzyon	12,86	17	708,36 $\pm$ 404,96	12,86	13	941,10 $\pm$ 751,04	0,680
VEGF -2.Transfüzyon	18,5	14	890,43 $\pm$ 825,44	18,5	2	950,32 $\pm$ 318,72	-
VEGF -3.Transfüzyon	26,81	10	872,83 $\pm$ 625, 79	26,81	1	1946 $\pm$ 0	-
IGF-1-1.Transfüzyon	12,86	16	33,59 $\pm$ 45,27	12,86	11	31,61 $\pm$ 101,50	0,294
IGF-1-2.Transfüzyon	18,5	13	76,25 $\pm$ 95,46	18,5	1	11,57 $\pm$ 16,36	-
IGF-1-3.Transfüzyon	26,81	8	23,71 $\pm$ 0,000	26,81	1	92,3 $\pm$ 0	-
IGFBP-3-1.Transfüzyon	12,86	16	1271,46 $\pm$ 707,34	12,86	10	914,94 $\pm$ 263,9	0,262
IGFBP-3-2.Transfüzyon	18,5	14	1383,24 $\pm$ 850,69	18,5	2	779,04 $\pm$ 491,15	-
IGFBP-3-3.Transfüzyon	26,81	10	1174,93 $\pm$ 334,80	26,81	1	2137,18 $\pm$ 0	-

ROP: prematüre retinopatisi, NO: Nitrit Oksit, g: gün, VEGF: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
IGF-1:İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1,IGFBP3:İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein-3

Tablo–VII: ROP olan ile olmayan olguların transfüzyon sonrası NO, VEGF, IGF–1 ve IGFBP3 değerlerinin karşılaştırılması

Değişkenler	ROP Olan Olgular			ROP Olmayan Olgular			
	Yaş(g)	n	Ortalama ± SD	Yaş (g)	n	Ortalama ± SD	p
NO–1.Transfüzyon	12,86	17	11,71 ± 12,58	12,86	13	17,94 ± 24,80	0,96
NO–2.Transfüzyon	18,5	14	14,95 ± 13,99	18,5	2	13,37 ± 9,45	-
NO–3.Transfüzyon	26,81	10	15,48 ± 14,93	26,81	1	30 ± 00	-
VEGF –1.Transfüzyon	12,86	17	622,32 ± 543,18	12,86	13	1123 ± 770,94	0,079
VEGF –2.Transfüzyon	18,5	14	1056,92 ± 673,20	18,5	2	889,20 ± 15,30	-
VEGF –3.Transfüzyon	26,81	9	1066,49 ± 661,80	26,81	1	2167 ± 00	-
IGF-1–1.Transfüzyon	12,86	16	61,05 ± 92,18	12,86	10	24,94 ± 42,43	-
IGF-1–2.Transfüzyon	18,5	13	101,74 ± 132,24	18,5	2	26,31 ± 37,20	-
IGF-1–3.Transfüzyon	26,81	8	72,26 ± 99,79	26,81	1	72,26 ± 000	-
IGFBP-3–1.Transfüzyon	12,86	16	1312,90 ± 806,00	12,86	11	1314,09 ± 302,76	0,85
IGFBP-3–2.Transfüzyon	18,5	14	1027,24 ± 565,87	18,5	2	781,48 ± 302,72	-
IGFBP-3–3.Transfüzyon	26,81	10	1386,62 ± 762,94	26,81	1	1506,90 ± 00	-

ROP: prematüre retinopatisi, g: gün, NO: Nitrit Oksit, VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü IGF–1:İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü–1,IGFBP3:İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein–3

ROP (+) olguların transfüzyon öncesi ve sonrası mediatör değerleri kendi içinde karşılaştırıldığında arada anlamlı fark bulunmadı.

İleri evre ROP (evre–2 ve üzeri) olan bebeklerin mediatör düzeyleri evre–1 ROP olan bebeklerin mediatör düzeyleri ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark bulunmadı (Tablo-VIII).

Tablo–VIII: Evre 2 ve Üzeri ROP Olan Bebeklerin Eritrosit Transfüzyonu öncesi ve sonrası NO, VEGF, IGF–1, IGFBP3 değerlerinin evre-1 ROP bebeklerle karşılaştırılması

		Evre 1 ROP n=11	Evre 2 ve Üzeri ROP n=6	p
NO	Yaş(g)	Ort±SD µg/l	Ort±SD µg/l	
1.Transfüzyon Öncesi	12,86	11,97 ± 10,67	13,89 ± 11,61	0,68
1.Transfüzyon Sonrası		10,99 ± 8,61	13,03 ± 18,85	0,64
2.Transfüzyon Öncesi	18,5	20,29 ± 11,76	25,63 ± 31,72	0,5
2.Transfüzyon Sonrası		16,21 ± 13,27	13,29 ± 16,01	0,4
3.Transfüzyon Öncesi	26,81	18,77 ± 18,68	16,33 ± 8,14	0,83
3.Transfüzyon Sonrası		20,75 ± 17,05	7,58 ± 6,76	0,24
VEGF		Ort±SD pg/ml	Ort±SD pg/ml	
1.Transfüzyon Öncesi	12,86	763,67 ± 332,06	606,96 ± 534,04	0,19
1.Transfüzyon Sonrası		669,64 ± 484,34	535,56 ± 678,97	0,58
2.Transfüzyon Öncesi	18,5	893,22 ± 758,42	886,71 ± 982,95	0,75
2.Transfüzyon Sonrası		994,65 ± 575,60	1139,96 ± 836,65	0,9
3.Transfüzyon Öncesi	26,81	1019,24 ± 706,49	653,22 ± 485,59	0,39
3.Transfüzyon Sonrası		1330,78 ± 647,79	537,92 ± 272,39	0,12
IGF–1		Ort±SD ng/ml	Ort±SD ng/ml	
1.Transfüzyon Öncesi	12,86	45,74 ± 48,83	13,35 ± 32,70	0,12
1.Transfüzyon Sonrası		79,09 ± 106,15	27,97 ± 51,28	0,33
2.Transfüzyon Öncesi	18,5	79,42 ± 90,56	71,17 ± 113,74	0,61
2.Transfüzyon Sonrası		98,93 ± 136,27	106,23 ± 141,15	0,75
3.Transfüzyon Öncesi	26,81	42,36 ± 94,71	56,18 ± 97,30	0,55
3.Transfüzyon Sonrası		69,24 ± 117,11	78,30 ± 73,94	0,69
IGFBP–3		Ort±SD ng/ml	Ort±SD ng/ml	
1.Transfüzyon Öncesi	12,86	1353,44 ± 848,11	1134,86 ± 412,85	0,58
1.Transfüzyon Sonrası		1423,73 ± 758,61	1165,13 ± 915,17	0,43
2.Transfüzyon Öncesi	18,5	1567,69 ± 935,20	1137,32 ± 728,10	0,3
2.Transfüzyon Sonrası		1257,04 ± 549,37	759,14 ± 496,15	0,08
3.Transfüzyon Öncesi	26,81	1229,96 ± 386,59	1092,38 ± 268,45	0,28
3.Transfüzyon Sonrası		1515,52 ± 967,54	1193,26 ± 320,83	0,83

NO: Nitrit Oksit, g: gün, VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü IGF–1:İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü–1,IGFBP3:İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein–3

ROP oluşumuna etkili değişkenler lojistik regresyon ile incelendiğinde VEGF, NO ve cinsiyetin ROP oluşumunda istatistiksel olarak etkili olmadığı ($p>0,05$), eritrosit transfüzyonunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) ve 3–4. transfüzyondan sonra her eritrosit transfüzyonunun ROP oluşumunu 1,61 kat artırdığı saptandı (Tablo-IX).

Tablo–IX: ROP oluşumuna etkili değişkenlerin lojistik regresyon analizi.

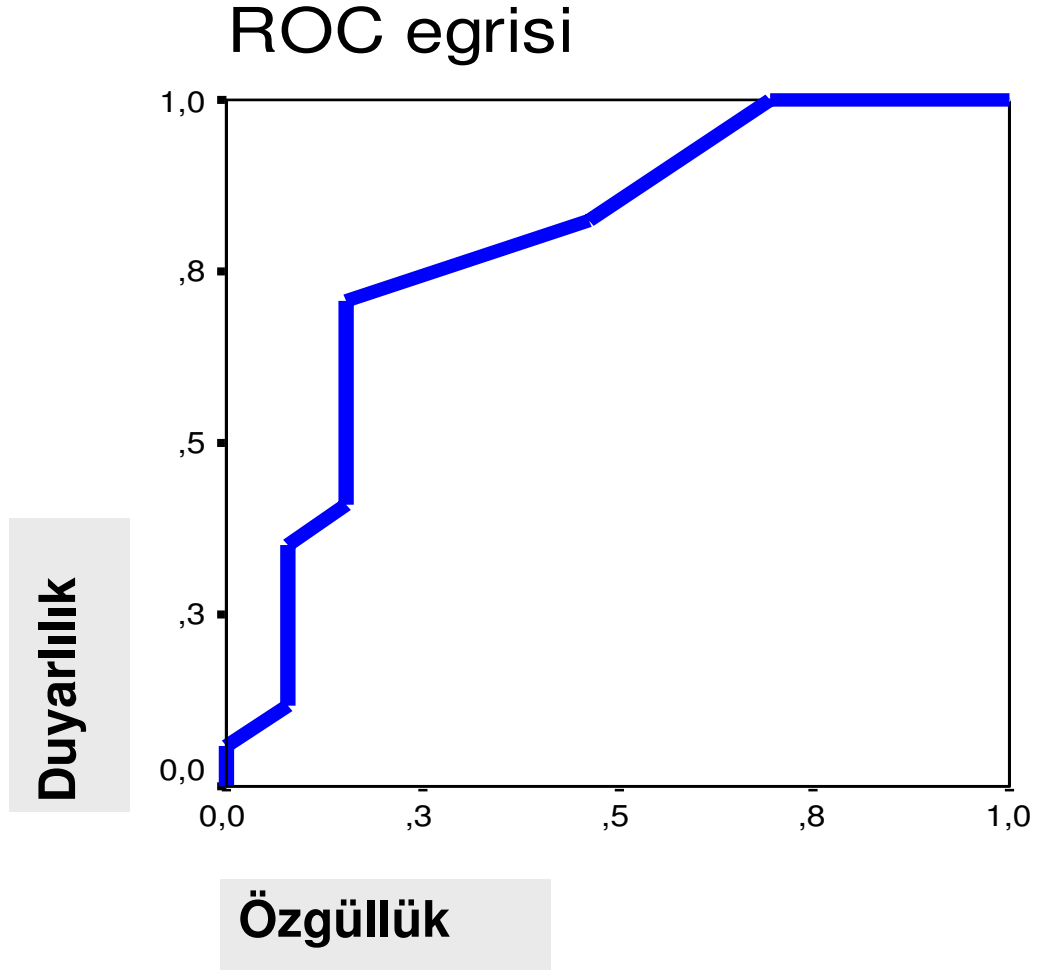
Değişkenler	β değeri	p değeri	Odds Ratio (%95 GA)
Eritrosit transfüzyonu	0,480	0,033	1,61 (1,03–2,51)
NO–1.transfüzyon öncesi	–0,052	0,109	0,95 (0,89–1,01)
VEGF–1. transfüzyon sonra	–0,002	0,46	0,99 (0,97–1,00)
Cinsiyet	2,01	0,120	7,55 (0,59–95,34)

NO: Nitrit Oksit, VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü, GA: güvenlik aralığı

ROP üzerine etkili olabilecek değişkenler Pearson korelasyonu ile karşılaştırıldığında ROP ile doğum ağırlığı arasında $p=0,05$ düzeyinde, ROP ile doğum haftası arasında $p=0,01$ düzeyinde kuvvetli ve ters yönde bir ilişki olduğu izlendi.

ROP oluşumuna etkili değişkenlerin kesme noktasını belirlemede ROC Curve analizi kullanıldı. Eritrosit transfüzyonu için ROC eğrisi altındaki alan= 0,790 istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,021$). Üç–dört eritrosit transfüzyonundan sonraki her eritrosit transfüzyonunun ROP oluşumunu arttırdığı saptandı (Tablo-X, Grafik–1).

Grafik-1:Eritrosit transfüzyonu için ROC eğrisi



Tablo-X: Eritrosit transfüzyonunun kesme noktasının duyarlılığı ve özgüllüğü.

Eritrosit transfüzyonu	Özgüllük	Duyarlılık
3-4	0,706	0,154
4-5	0,588	0,154

TARTIŞMA

Son teknolojik gelişmeler sayesinde giderek daha düşük gestasyon yaşında ve daha düşük doğum ağırlıklı bebeklerin yaşama şansı artmıştır. Günümüzde prematüre bebeklerde yaşayabilirlik sınırı 23 gebelik haftası ve 500 g doğum ağırlığından başlar duruma gelmiştir. Ancak bu durum yaşam şansı artan pretermelerde ileriye dönük sorunlarda da artışa neden olmuştur (75,76). Prematüre bebekler için uzun vadede en önemli sorunlardan biri de ROP' dur. ROP tedavi alanındaki tüm gelişmelere ve ROP gelişimini önlemek için alınan tüm tedbirlere rağmen tanımlandığı günden beri prematüre bebeklerde önemli bir körlük nedeni olarak yerini korumaktadır. Prematüre doğumdan sonra bebekte IGF–1 düzeyi düşer ve ancak bebek yeterli beslenmeye başlandığında artış gösterir. Bu arada prematüre bebeğin karşılaştığı oksijenden zengin ortam nedeniyle retinada VEGF salınımı baskılanır. Hem VEGF'nin vitreusta azalması hem de IGF–1 düzeyi düşüklüğü birlikte olunca retinal damarlarda duraklama olur (Faz 1 ROP)(31,32,33). İlerleyen haftalarda bebeğin IGF–1 düzeyleri ve eş zamanlı olarak retinada damarlanmanın duraklaması sonucu gelişen hipoksi nedeniyle VEGF düzeyleri artar (74). IGF–1 VEGF'nin vaskülarizasyon yapıcı etkisini artırır ve bu durum retinada kontrolsüz bir neovaskülarizasyona yol açar (Faz 2 ROP) (33) . İşte ROP için yapılacak ilk muayene bu retinal damar proliferasyonunun başladığı dönemde olmalıdır. Prematüre bebekler eğer zamanından erken muayene edilirse retina tamamen normal görülürken, geç yapılmış bir muayene de ROP nedeni ile müdahale edilecek bebeklere geç kalınmış olunur. Bu nedenle AAPOS tarafından ROP için muayene zamanı olarak doğumdan sonra 4–6. hafta veya doğum sonrası gestasyonel yaşı 31–

33 hafta (hangisi daha geç ise) olarak önerilmektedir (77). Bu dönemde evre–1 ve/veya evre–2 ROP tespit edilen bebekler 2 hafta ara ile takip edilirken evre–3 ve üzeri ROP tespit edilen bebeklere tedavi amaçlı müdahale edilmektedir.

Patogenezen de anlaşılabacağı gibi ROP gelişiminde pek çok faktör rol oynar. Bunlardan bir tanesi de eritrosit transfüzyonudur (44). Eritrosit transfüzyonunun ROP gelişimine ne şekilde etki ettiği henüz tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Ancak bazı görüşler öne sürülmektedir. Birincisi eritrosit transfüzyonu ile prematüre bebeklere yüklenen hemoglobinin yetişkin hemoglobin olmasıdır. Yetişkin hemoglobinin oksijene bağlanma gücü fetal hemoglobine göre daha azdır. Bu da eritrosit transfüzyonu ile dokulara oksijen transferinde artmaya neden olarak dokularda oksidatif stres oluşturur. Eritrosit transfüzyonu sonucu ROP gelişmesine yol açabilecek ikinci neden ise her transfüzyon ile birlikte demir yükünün artması ve dokularda serbest radikaller aracılığı ile yıkım oluşturmasıdır (5,12). Ancak bu konudaki araştırmaların sonuçları çelişkilidir. Hesse ve ark. ROP riski taşıyan preterm bebeklerde yaptıkları araştırmada eritrosit transfüzyonu hacmi ile ROP gelişimi, arasında ilişki bulurken demir yükü ile ilişki bulamamışlardır (34). Öte yandan Hirano ve ark. eritrosit transfüzyonlarının serbest demir yükünü artırdığına dikkat çekmişlerdir (35). Bir başka çalışmada ise her bir eritrosit transfüzyonu ile bebeklere 0.5mg/ml demir yükü verildiği belirtilmiş, eritrosit transfüzyonu ile evre 1 ve evre 2 ROP gelişimi arasında ilişki bulunmuş ve bunun aynı zamanda ilk haftadaki demir yükü ile de bağlantılı olduğu belirtilmiştir (11). Eritrosit transfüzyonunun ROP gelişimi üzerindeki etkisine yönelik ileri sürülen diğer bir görüş ise her eritrosit transfüzyonu ile birlikte yetişkinlerde fazla miktarda bulunan IGF–1, IGFBP–3’ ün de prematüre bebeklere verilmesi ve proliferasyon fazında zaten retinada artmış bulunan VEGF

varlığında IGF-1 düzeyinin de artarak aşırı neovaskülarizasyona neden olmasıdır. Hübler ve ark. yaptıkları çalışmada preterm bebeklere yapılan eritrosit transfüzyonu örneklerinde IGF-1, IGF-2, IGFBP-3 düzeylerini ölçmüş ve yıkanmamış eritrosit süspansiyonlarında IGF-1 düzeyini 12.88 µg/l (0.012 ng/ml) bularak bu konuya dikkat çekmişlerdir (39). Çalışmamızda eritrosit transfüzyonunun ROP gelişimini arttırdığı tespit edilmiş olmasına karşın, eritrosit transfüzyonu öncesi ve sonrasında IGF-1, IGFBP-3 düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Eritrosit transfüzyonu ile prematüre bebeklere verilen IGF-1, IGFBP-3 düzeyinin ihmal edilecek kadar düşük olduğu görülmüştür.

ROP gelişimine etkili mediatörlerden belki de en önemlisi VEGF' dir. VEGF hem embriyonel hayatta damar oluşumunun başlaması hem de doğum sonrası damarların olgunlaşması ve patolojik durumlarda anormal damarsal gelişim basamaklarında görev alır. Yapılan çalışmalar VEGF' nin hipoksik ortamda artarken hiperoksik ortamda sentezinin azaldığını göstermektedir (14,57,87). Şimdiye kadar eritrosit transfüzyonunun dokularda oksijen düzeyini arttırmak yolu ile VEGF sentezini baskılayarak ROP oluşumuna katkısı olup olmadığı araştırılmamıştır. Çalışmamızda eritrosit transfüzyonu öncesi ve sonrası serum VEGF düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamamıştır ($p>0,05$). VEGF in anormal damar gelişimi sırasında belkide en fazla birlikteliği olan sitokin NO' dur. NO' nun birçok fizyolojik ve patolojik olayda görev aldığı bilinmektedir. Bunlardan bir tanesi de anormal damar oluşumudur. Yapılan çalışmalar VEGF'nin flk/KDR reseptörlerine bağlanarak hücre içinde cGMP' yi aktive ederek NO sentezinde artmaya neden olduğunu göstermektedir (47). Ortamda artan NO anormal damar gelişimine neden olmaktadır (3,4,20). Fukumura ve arkadaşları yaptıkları çalışmada endotelial nitrik

oksit sentetaz (eNOS) olmayan farelerde VEGF' nin vaskülarizasyonu artırıcı etkisinin olmadığını saptamışlardır(20). Ziche ve arkadaşları ise sistemik NOS inhibitörü verdiklerinde VEGF'e bağlı damar gelişiminin durduğunu göstermişlerdir (90). Diğer taraftan ortamda artan NO aktive fosfokinaz üzerinden VEGF sentezini baskılar. VEGF sentezinin azalması ile birlikte damar gelişiminde yavaşlama olmaktadır. Ayrıca ortamda artan NO lipid peroksidasyonu yoluyla damar duvarında zedelenmeye neden olmaktadır. Al-Shabrawey ve arkadaşları NO defektif farelerde hipoksi–hiperoksi dalgalanmalarından retinal damar gelişiminin daha az etkilendiğini göstermişlerdir (2). VEGF ve NO' nun ROP gelişiminde bu kadar yakın ilişkili olduğu ve oksijen dalgalanmaları ile düzeylerinin değiştiği bilinmesine rağmen şimdiye kadar NO düzeyinin eritrosit transfüzyonu ile değişip değişmediğine dair çalışma yoktur. Ancak anemide dokulara oksijen sunumu azaldığından periferik vazodilatasyon olduğu bilinmektedir ve hipotetik olarak bunun artmış NO üzerinden olabileceği ve transfüzyondan sonra NO'nun tekrar azalacağı düşünülebilir. Çalışmamızda serum NO düzeyinin eritrosit transfüzyonu ile değişip değişmediğine bakılmış, transfüzyon öncesi ve sonrası NO düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görülmüştür ($p>0,05$).

Çalışmaya alınan olguların ROP gelişen ve gelişmeyen 2 ayrı grup olarak ayrıca analizi yapılmış ve etyopatogeneizde ROP gelişiminde suçlanan faktörler ve mediatör düzeyleri karşılaştırılmıştır. Doğum ağırlığı ve gebelik haftası ile ROP gelişimi arasında literatüre uyumlu olarak negatif ilişki bulunmuştur. Oksijen süresi ROP (+) bebeklerde daha uzun olmakla birlikte oksijen süresi ile ROP arasında istatistiksel olarak korelasyon bulunmamıştır. Bunun nedeni yeni doğan yoğun bakım

ünitemizde bebeklere verilen oksijen konsantrasyonunun olabildiğince düşük tutulmaya çalışılması olabilir.

Damar endotel hücrelerinin normal fonksiyon gösterip devamlılığını sağlayabilmesi için ortamda VEGF' nin yanı sıra IGF-1' inde normal düzeyde olması gerekmektedir. Yenidoğan bebeklerde IGF-1 düzeyi ortalama 50 ng/ml düzeyindedir. Ann Hellstrom ve arkadaşları VEGF' nin IGF-1 normal düzeylerde iken aktive tirozin kinazı normalin 5 katı daha fazla aktive ettiğini, IGF-1 düzeyi 10 ng/ml' ye düşürüldüğünde (yaklaşık olarak ROP gelişecek prematür bebeklerdeki düzey) ise VEGF etkisinin zayıfladığını ve damar gelişiminin yavaşladığını göstermişlerdir. Bunlar VEGF' nin ortamda normal düzeyde olsa da IGF-1 yokluğunda ya da düzeyi eksik olduğunda normal damar gelişiminin olamayacağını göstermektedir. Yine Hellstrom ve ark. postkonsepsiyonel 30-35 haftalık bebeklerde IGF-1 düzeylerinin 30ng/ml'nin altında olmasının Evre 2-5 ROP gelişiminde risk faktörü olduğunu ve IGF-1 düzeylerinin uzun süre düşük kalmasının (19 günden uzun) yine ROP gelişiminde etkili olduğunu göstermişlerdir (32,33). Başka bir çalışmada ROP riski taşıyan bebeklerden postnatal 4-6. haftalarda alınan serum örneklerinde IGF-1 ve VEGF düzeyleri ölçülmüş ve bu dönemde 24 ng/ml altında IGF-1 düzeyleri ROP ile ilişkili bulunmuştur (85). Diğer bir çalışmada ise postnatal baş çevresi gelişiminin geri kalmasının preterm bebeklerde IGF-1 düzeyi düşüklüğü ve ileri evre ROP gelişimi ile paralellik gösterdiği belirtilmiş ve erken beslenme ile IGF-1 düzeyinin erken dönemde yükseltip Faz1 ROP gelişiminin önüne geçilebileceğine dikkat çekilmiştir (52). IGF-1'in retinanın normal damarlanması için yalnızca pretermelerde değil daha büyük çocuklarda da etkili olduğu bilinmektedir (31). Aralıklı olarak postnatal 7,14 ve 21 günlerde serum IGF-1 ve vitreus VEGF düzeyleri ölçülen sıçanlarda düzeylerin

giderek arttığı ve bunun retinal damarlanmayla paralel olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda 17 bebekte ROP saptanmış, ROP gelişen ve gelişmeyen preterm bebeklerde IGF-1, VEGF ve NO düzeyleri açısından (2. transfüzyon öncesi NO değerleri hariç) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. İleri evre olarak kabul edilen evre2 ve üzeri ROP 6 olguda saptanmış ve bu olgularla evre 1 ROP olan olguların IGF-1, VEGF, NO düzeyleri arasında da yine anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bununla birlikte ileri evre ROP'lu olgularda ilk serum örneğinin alındığı (postkonsepsiyonel 30-31.hafta) postnatal ortalama 12. günde serum IGF-1 düzeyi $13,35 \pm 32,7$ ng/ml yani aslında ROP açısından risk oluşturacak kadar düşük bulunmuştur. Ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamaması ileri evre ROP'lu olgu sayısının azlığından kaynaklanmış olabilir. İkinci kan örneğinin alındığı postnatal 19.gün ve postkonsepsiyonel 32. haftada serum IGF-1 düzeyi bu grupta $71,17 \pm 113,74$ ng/ml'ye yükselmiştir (Normal aralık: doğumda 21-93 ng/ml, 2. ayda 23-163 ng/ml). Bu durum bebeklerin daha iyi beslendiği ve geliştiği bir döneme karşılık gelmektedir ve klinikle de uyumludur,

IGF-1' in serumda taşıyıcısı IGFBP-3 dür. IGFBP-3, IGF-1'den farklı olarak hücrelerde mitojenik bölünmeyi inhibe ederek apoptozisi uyarıcı özelliğe sahiptir. Onkolojik hastalarda IGFBP-3 düzeyinin artmasının iyi prognoz göstergesi olduğuna dair çok sayıda araştırma vardır (23,26). Bununla birlikte, ROP' da IGFBP-3'ün koruyucu olduğuna dair yapılmış çalışma sayısı sınırlıdır. IGFBP-3 ve ROP birlikteliğini araştıran literatürdeki tek çalışmada ROP açısından riskli 79 hastada haftalık IGFBP-3 düzeyleri bakılmış ve evre-3 ROP saptanan 13 bebekte IGFBP-3 düzeyleri ROP olmayanlara göre düşük bulunmuştur (51). Çalışmamızda ROP olan ve olmayan bebeklerin IGFBP-3 düzeyleri arasında istatistiksel olarak fark

bulunmamıştır ($p > 0,05$). İleri evre ROP'u olan 6 bebeğin sonuçları ayrıca incelendiğinde postnatal 12.günde alınan IGFBP-3 düzeyinin ($1314,09 \pm 302,76$ ng/ml) literatürde proliferatif ROP olarak belirtilen olgulardan yüksek olduğu ($802 \pm 66 \mu\text{g/l} = 802 \pm 66$ ng/ml) görülmüştür. Bunun nedeni ileri evre ROP olarak kabul ettiğimiz olgularda yalnızca 1 tane evre 3 ROP olması olabilir.

Sonuç olarak çalışmamızda preterm bebeklerde ROP açısından önemli kabul edilen mediatör düzeylerinin eritrosit transfüzyonu ile değişmediği saptanmıştır. Bu şimdiye kadar literatürde belirtilmemiş bir konudur. Özellikle 3-4 kezden fazla yapılan eritrosit transfüzyonunun evre 1 dahi olsa ROP gelişim riskini artırdığı görülmüştür. Bu sonuç literatürle uyumludur. Nedeni daha öncede literatürde belirtilen hiperoksi, serbest oksijen radikalleri ya da demir yüklemesi olabilir ancak bu konuda daha büyük gruplarla yapılacak çalışmalara gereksinim vardır. Bu çalışmaların sonuçları alınana kadar preterm bebeklerin yenidoğan yoğun bakım ünitesindeki izlemleri sırasında gereksiz transfüzyondan kaçınılması ve hiç olmazsa bu risk faktörünün engellenmesi ROP gelişimini önlemek açısından yararlı olabilir. Çalışmamızın sonuçları ROP gelişen bebeklerin IGF-1 düzeyleri açısından literatürle uyumlu kabul edilebilir. İleri evre ROP gelişen bebeklerde ortalama IGF-1 düzeyleri literatürde belirtilen düzeylerde bulunmuş ancak sayı çok az olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ROP' lu olgularda serum NO düzeyleri daha önce literatürde yer almadığından bir karşılaştırma yapmak mümkün olmayacaktır. Serum VEGF düzeyleri tek bir çalışmada ROP'lu bebeklerde düşük bulunmuştur ancak gerçekte önemli olan vitreustaki VEGF düzeyi olduğundan serum VEGF düzeylerinin ROP olan ve olmayan olgularda tek başına bir anlam ifade edip etmediği konusu tartışmalıdır. Serum IGFBP-3 düzeyleri tek bir çalışmada ROP açısından

incelenmiş ve yine ileri evre ROP'lu olgularda düşük olduğu bulunmuştur. Bizim çalışmamızda IGFBP-3 düzeylerinin gruplar arasında fark göstermemesi yine ileri evre ROP olgu sayımızın azlığına bağlı olabilir. Yenidoğan yoğun bakım ünitemizde izlenen olgularda ileri evre ROP'un az görülmüş olması çalışma sonuçlarının yorumunu güçleştirmesine karşın gerçekte bebekler açısından ve ünitenin verdiği hizmet açısından sevindirici bir durumdur. Çalışmaya alınan 30 bebekten 17'sinde ROP görülmüş ancak yalnızca 5 evre 2 ve 1 evre 3 ROP olgusu saptanmıştır. Bu durum gerek eritrosit transfüzyonu, gerek oksijen tedavisi konusunda, gerek se beslenme ile erken dönemde IGF-1 düzeylerinin normale getirilmesi konusunda yenidoğan yoğun bakım ünitemizin doğru yolda olduğunu göstermesi açısından önemlidir.

SONUÇLAR

1. Çalışmaya alınan 30 hastanın 17'sinde (%56,7) ROP tespit edildi.
2. ROP olgularının 11' i evre 1, 5' i evre 2, 1' i evre 3 olarak değerlendirildi.
3. ROP olan bebeklerin doğum haftaları ROP olmayanlara göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,05$).
4. ROP olan ve olmayan bebeklerin doğum ağırlıkları arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmedi.
5. ROP gelişen bebeklerde ventilatör tedavi süresi ($9,4 \pm 4,6$ gün), ROP olmayanlara ($2,7 \pm 4,4$ gün) göre daha uzun bulundu ($p<0,05$).
6. ROP (+) bebeklerde oksijen tedavisi süresi ($39,6 \pm 28,9$ gün), ROP olmayanlara ($21,4 \pm 28,2$ gün) göre daha uzun bulundu ($p<0,05$).
7. Eritrosit transfüzyonu alan bebeklerde eritrosit transfüzyonu öncesi ve transfüzyon sonrası serum NO, VEGF, IGF-1 ve IGFBP3 düzeylerinde fark saptanmadı ($p>0,05$).
8. ROP (+) ve ROP (-) bebeklerin aldıkları eritrosit transfüzyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$) ve eritrosit transfüzyonun 3-4. transfüzyondan sonra ROP gelişimini her transfüzyon için 1,6 kat arttırdığı tespit edildi.
9. ROP (+) ve ROP (-) bebeklerin mediatör düzeylerine bakıldığında 2. transfüzyon öncesi NO değerleri hariç NO, VEGF, IGF-1 ve IGFBP3 düzeylerinin arasında fark olmadığı görüldü.

10. İleri evre ROP gelişmiş olan 6 olguda IGF–1 düzeylerinin ilk ölçümde ortalama 13 ng/ml ile ROP açısından risk sınırına yakın bulundu.

ÖZET

ROP tüm tarama programlarına ve tedavi alanındaki gelişmelere rağmen prematüre bebeklerin önemli bir körlük sorunu olarak yerini korumaktadır. Gelişimi multifaktöriyel olan ROP için ilk tanımlandığı 1942 yılından günümüze kadar birçok neden suçlanmıştır. Bunlardan bir tanesi de eritrosit transfüzyonu olup ROP oluşumundaki etkisi tam olarak aydınlatılabilmiş değildir.

Eritrosit transfüzyonunun ROP gelişimine etkisinin oksidatif stres ve her eritrosit transfüzyonu ile bebeklerde artan demir yüküne bağlı serbest radikaller yolu ile olduğu iddia edilmiş ancak tam olarak aydınlatılamamıştır. Diğer taraftan şimdiye kadar ROP üzerine etkili olduğu bilinen ve sentez aşamaları kan oksijen düzeyinden etkilenen mediatörler olan NO, VEGF, IGF–1, IGFBP–3' ün eritrosit transfüzyonu ile düzeylerinin değişimi ve bu yolla ROP üzerine etkileri şimdiye kadar araştırılmamıştır.

Bu çalışmada mediatörlerin eritrosit transfüzyonu ile düzeylerinin değişimi ve ROP üzerine etkileri araştırılmıştır.

Çalışmada mediatör düzeylerinin eritrosit transfüzyonu ile değişmediğini, ancak eritrosit transfüzyonunun ROP sıklığını artırdığı gösterilmiştir. Bu durumda eritrosit transfüzyonu ile ROP ilişkisini araştırmak için yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır. Öte yandan ileri evre ROP gelişmiş olan bebeklerde erken dönemde ortalama IGF–1 düzeyi 30 ng/ml olan kritik düzeyin altında bulunmuş ve erken dönemde beslenmenin önemi bir kez daha vurgulanmıştır.

ABSTRACT

Despite all scanning programs and developments in treatment, retinopathy of prematurity (ROP) is still the major cause of visual loss in premature infants. Several factors have been claimed to be cause of multifactorial ROP since 1942 when first recognised. One the them is erythrocyte transfusion that its role in establishment of ROP has not yet been fully understood.

Erythrocyte transfusion effect has been thought to depend on oxidative stress and free radicalls of increased iron load in erythrocyte transfused infants. Bu it has not been completely highlighted. On the other hand, NO, VEGF, IGF-1, IGFBP-3 level alteration that has been proven to be effective on ROP and affected from blood oxygen by erythrocyte transfusion and consequently their role on ROP establishment has not been investigated so far.

In this study, we have analyzed the mediators variation through erythrocyte transfusion and their impact on ROP.

In our investigation, we have realised that there is no mediator variation through erythrocyte transfusion, however, it augments the frequency of ROP incidence. So, we have recommended fresh works for better understanding of relationship between erythrocyte transfusion and ROP incidences.

At the same time, in advanced phase infant ROP incidence subjects with early stage IGF-1 30 ng/ml has been found to be under critical level and stressed once again on the importance of early stage nutrition.

KAYNAKLAR

1. Achen MG, Jeltsch M, Kukk E, Makinen T, Vitali A, Wilks AF, Alitalo K, Stacker SA: Vascular endothelial growth factor D (VEGF-D) is a ligand for the tyrosine kinases VEGF receptor 2 (Flk1) and VEGF receptor 3 (Flt4). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Jan 20;95(2): 548–53
2. Al-Shabrawey M, El-Remessy A, Gu X, Brooks SS, Hamed MS, Huang P, Caldwell RB: Normal vascular development in mice deficient in endothelial NO synthase: Possible role of neuronal NO synthase. *Mol Vis*. 2003 Oct 8;9: 549–58
3. Bouloumie A, Schini-Kerth VB, Busse R. Vascular endothelial growth factor up-regulates nitric oxide synthase expression in endothelial cells. *Cardiovasc Res*. 1999 Mar;41(3): 773–80
4. Brooks SE, Gu X, Samuel S, Marcus DM, Bartoli M, Huang PL, Caldwell RB. Reduced severity of oxygen-induced retinopathy in eNOS-deficient mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001 Jan;42(1):222–8
5. Brooks SE, Marcus DM, Gillis D, Pirie E, Johnson MH, Bhatia J. The Effect of Blood Transfusion Protocol on Retinopathy of Prematurity: A Prospective, Randomized Study. *Pediatrics* 1999;104:514–518
6. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *J Cell Mol Med*. 2005 Oct-Dec;9(4):777–94

7. Chen J, Smith LE. Retinopathy of prematurity. *Angiogenesis*. 2007;10(2):133–40
8. Costa C, Soares R, Schmitt F. Angiogenesis: now and then. *APMIS*. 2004 Jul-Aug;112(7–8): 402–12
9. Cooke JP, Reynaud MR, Tsao SP and Maxwell AJ: Nitric Oxide and Vascular Disease: Nitric Oxide. Birinci baskı. Ignarro LJ (ed), Philadelphia 2000 S. 759–783
10. Dağoğlu T: prematürite: Neonatoloji. 1. baskı. Yurdakök M (ed) Ankara 2004, S.123–130
11. Dani C, Martelli E, Bertini G, Pezzati M, Rossetti M, Buonocore G, Paffetti P and F F Rubaltelli. Effect of blood transfusions on oxidative stress in preterm infants. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed*. 2004;89;408–411
12. Dani C, Reali MF, Bertini G, Martelli E, Pezzati M, Rubaltelli FF. The role of blood transfusions and iron intake on retinopathy of prematurity. *Early Hum Dev*. 2001 Apr;62(1): 57–63
13. Doyle JJ, Schmidt B, Blanchette V and Zipursky A: Hematology: Neonatology. Beşinci baskı. Avery GB(ed), Philadelphia 1999, S. 1145–1191
14. Dunst J, Becker A, Lautenschlager C, Markau S, Becker H, Fischer K, Haensgen G. Anemia and Elevated Systemic Levels of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) *Strahlenther Onkol* 2002;178:436–41
15. Englert JA, Saunders RA, Purohit D, Hulsey TC, Ebeling M. The effect of anemia on retinopathy of prematurity in extremely low birth weight infants. *J Perinatol*. 2001 Jan-Feb;21(1): 21–6

16. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis. *Kidney Int.* 1999 Sep;56(3): 794–814
17. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001 Jun;280(6): C 1358–66
18. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev.* 1997 Feb;18(1): 4–25
19. Floyd BN, Leske DA, Wren SM, Mookadam M, Fautsch MP, Holmes JM. Differences between rat strains in models of retinopathy of prematurity. *Mol Vis.* 2005 Jul 19;11: 524–30
20. Fukumura D, Gohongi T, Kadambi A, Izumi Y, Ang J, Yun CO, Buerk DG, Huang PL, Jain RK. Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Feb 27;98(5): 2604–9
21. Fürstenberger G, Senn HJ. Insulin-like growth factors and cancer. *Lancet Oncol* 2002; 3: 298–302
22. Gao G, Li Y, Fant J, Crosson CE, Becerra SP, Ma JX. Difference in ischemic regulation of vascular endothelial growth factor and pigment epithelium–derived factor in brown norway and sprague dawley rats contributing to different susceptibilities to retinal neovascularization. *Diabetes* 2002; 51:1218–25
23. Giovannucci E. Insulin-like growth factor-I and their bindingprotein-3 and risk of cancer. *Hormone Research* 1999; 51: 34–41

24. Good WV, Hardy RJ, Dobson V, Palmer EA, Phelps DL, Quintos M, Tung B; Early Treatment for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. The incidence and course of retinopathy of prematurity: findings from the early treatment for retinopathy of prematurity study. *Pediatrics*. 2005 Jul;116(1):15–23
25. Grant MJ, Huether SE, Witte KM, Effect of red blood cell transfusion on oxygen consumption in the anemic pediatric patient. *Pediatr Crit Care Med* 2003 Vol. 4, No. 4 459
26. Grimberg A, Cohen P. Role of insulin-like growth factors and their binding proteins in growth control and carcinogenesis. *J Cell Physiol*. 2000 Apr;183(1):1–9
27. Gu X, Samuel S, Marcus DM, Bartoli M, Huang PL, Caldwell RB. Reduced severity of oxygen-induced retinopathy in enos-deficient mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001 Jan;42(1):222–8
28. Hanahan D. Signaling vascular morphogenesis and maintenance. *Science*. 1997 Jul 4;277(5322): 48–50.
29. Hare GM, Mazer CD, Mak W, Gorczynski RM, Hum KM, Kim SY, Wyard L, Barr A, Qu R, Baker AJ. Hemodilutional anemia is associated with increased cerebral neuronal nitric oxide synthase gene expression. *J Appl Physiol*. 2003 May;94(5): 2058–67
30. Haroon Parupia MF, Dhanireddy R. Association of postnatal dexamethasone use and fungal sepsis in the development of severe retinopathy of prematurity and progression to laser therapy in extremely low-birth-weight infants. *J Perinatol*. 2001 Jun;21(4): 242–7

31. Hellstrom A, Carlsson B, Niklasson A, Segnestam K, Boguszewski M, de Lacerda L, Savage M, Svensson E, Smith L, Weinberger D, Albertsson-Wikland K, Laron Z. IGF-I is critical for normal vascularization of the human retina. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Jul;87(7): 3413–6
32. Hellstrom A, Perruzzi C, Ju M, Engstrom E, Hard AL, Liu JL, Albertsson-Wikland K, Carlsson B, Niklasson A, Sjodell L, LeRoith D, Senger DR, Smith LE. Low IGF-I suppresses VEGF-survival signaling in retinal endothelial cells: Direct correlation with clinical retinopathy of prematurity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 May 8;98(10): 5804–8
33. Hellström A, Engström E, Hård AL, Albertsson-Wikland K, Carlsson B, Niklasson A, Löfqvist C, Svensson E, Holm S, Ewald U, Holmström G, Smith LE. Postnatal serum insulin-like growth factor I deficiency is associated with retinopathy of prematurity and other complications of premature birth. *Pediatrics.* 2003 Nov;112(5): 1016–20
34. Hesse L, Eberl W, Schlaud M, Poets CF. Blood transfusion. Iron load and retinopathy of prematurity. *Eur J Pediatr.* 1997 Jun;156(6): 465–70
35. Hirano K, Morinobu T, Kim H, Hiroi M, Ban R, Ogawa S, Ogihara H, Tamai H and Ogihara T. Blood transfusion increases radical promoting non-transferrin bound iron in preterm infants. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* 2001;84; 188–193
36. Hoebe A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Van Oosterom AT, De Bruijn EA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacol Rev.* 2004 Dec;56(4): 549–80

37. Horowitz JR, Rivard A, van der Zee R, Hariawala M, Sheriff DD, Esakof DD, Chaudhry GM, Symes JF, Isner JM. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor produces nitric oxide-dependent hypotension. Evidence for a maintenance role in quiescent adult endothelium, *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997 Nov;17(11): 2793–800
38. Hutchinson AK, O'Neil JW, Morgan EN, Cervenak MA, Saunders RA. Retinopathy of prematurity in infants with birth weights greater than 1250 grams. *J AAPOS.* 2003 Jun;7(3): 190–4
39. Hübler A, Knote K, Kauf E, Barz D, Schlenvoigt D, Schramm D. Does insulin-like growth factor 1 contribute in red blood cell transfusions to the pathogenesis of retinopathy of prematurity during retinal neovascularization? *Biol Neonate.* 2006;89(2): 92–8
40. Inder TE, Clemett RS, Austin NC, Graham P, Darlow BA. High iron status in very low birth weight infants is associated with an increased risk of retinopathy of prematurity. *J Pediatr.* 1997 Oct;131(4): 541–4
41. Isenberg JS: *Eye Disorders: Neonatology.* Beşinci baskı. Avery GB (ed), Philadelphia 1999, S. 1285–1230
42. Jerome L, Shiry L, Jones BL. Deregulation of the IGF axis in cancer: epidemiological evidence and potential therapeutic interventions. *Endocr Relat Cancer* 2003; 10: 561–578
43. Johnson L, Quinn GE, Abbasi S, Gerdes J, Bowen FW, Bhutani V. Severe retinopathy of prematurity in infants with birth weights less than 1250 grams: incidence and outcome of treatment with pharmacologic serum levels of

- vitamin E in addition to cryotherapy from 1985 to 1991. *J Pediatr.* 1995 Oct;127(4): 632–9
44. Karna P, Muttineni J, Angell L, Karmaus W. Retinopathy of prematurity and risk factors: a prospective cohort study. *BMC Pediatr.* 2005 Jun 28;5(1):18
 45. Kawasaki T, Kitsukawa T, Bekku Y, Matsuda Y, Sanbo M, Yagi T, Fujisawa H. A requirement for neuropilin–1 in embryonic vessel formation. *Development.* 1999 Nov;126(21): 4895–902
 46. Kleinert H, Boissel JP, Schwartz MP and Förstermann U: Regulation of the expression of Nitric Oxide synthase isoforms: Nitric Oxide. Birinci baskı. Ignarro LJ (ed), Philadelphia 2000 S. 105–128
 47. Kroll J, Waltenberger J. A novel function of VEGF receptor–2 (KDR): rapid release of nitric oxide in response to VEGF-A stimulation in endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999 Nov 30;265(3): 636–9
 48. Leduc M, Kermorvant-Duchemin E, Checchin D, Sennlaub F, Sirinyan M, Kooli A, Lachapelle P, Chemtob S. Hypercapnia- and trans-arachidonic acid-induced retinal microvascular degeneration: implications in the genesis of retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006 Aug;47(8): 3595–602
 49. LeRoith D, Baserga R, Helman L, Charles T. Roberts Jr. Insulinlike Growth Factors and Cancer. *Ann Intern Med* 1995; 122: 54–59
 50. Leske DA, Wu J, Fautsch MP, Karger RA, Berdahl JP, Lanier WL, Holmes JM. The role of VEGF and IGF–1 in a hypercarbic oxygen-induced retinopathy rat model of ROP. *Mol Vis.* 2004 Jan 21;10: 43–50

51. Lofqvist C, Chen J, Connor KM, Smith AC, Aderman CM, Liu N, Pintar JE, Ludwig T, Hellstrom A, Smith LE. IGFBP3 suppresses retinopathy through suppression of oxygen-induced vessel loss and promotion of vascular regrowth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Jun 19;104(25):10589–94
52. Lofqvist C, Engstrom E, Sigurdsson J, Hard AL, Niklasson A, Ewald U, Holmstrom G, Smith LE, Hellstrom A. Postnatal head growth deficit among premature infants parallels retinopathy of prematurity and insulin-like growth factor-1 deficit. *Pediatrics*. 2006 Jun;117(6):1930–8
53. Lubetzky R, Stolovitch C, Dollberg S, Mimouni FB, Salomon M, Mandel D. Nucleated red blood cells in preterm infants with retinopathy of prematurity. *Pediatrics*. 2005 Nov;116(5): 619–22
54. Luty GA, Chan-Ling T, Phelps DL, Adamis AP, Berns KI, Chan CK, Cole CH, D'Amore PA, Das A, Deng WT, Dobson V, Flynn JT, Friedlander M, Fulton A, Good WV, Grant MB, Hansen R, Hauswirth WW, Hardy RJ, Hinton DR, Hughes S, McLeod DS, Palmer EA, Patz A, Penn JS, Raisler BJ, Repka MX, Saint-Geniez M, Shaw LC, Shima DT, Smith BT, Smith LE, Tahija SG, Tasman W, Trese MT. Proceedings of the Third International Symposium on Retinopathy of Prematurity: an update on ROP from the lab to the nursery. *Mol Vis*. 2006 May 23;12: 532–80
55. Mathew MR, Fern AI, Hill R. Retinopathy of prematurity: are we screening too many babies? *Eye*. 2002 Sep;16(5): 538–42
56. McColm JR, Geisen P, Hartnett ME. VEGF isoforms and their expression after a single episode of hypoxia or repeated fluctuations between hyperoxia and hypoxia: Relevance to clinical ROP. *Molecular Vision* 2004; 10:512-20

57. Miele C, Rochford JJ, Filippa N, Giorgetti-Peraldi S, Van Obberghen E. Insulin and insulin-like growth factor-I induce vascular endothelial growth factor mRNA expression via different signaling pathways. *J Biol Chem.* 2000 Jul 14;275(28): 21695–702
58. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide.* 2001 Feb;5(1): 62–71
59. Murohara T, Horowitz JR, Silver M, Tsurumi Y, Chen D, Sullivan A, Isner JM. Vascular Endothelial Growth Factor/Vascular Permeability Factor Enhances Vascular Permeability Via Nitric Oxide and Prostacyclin. *Circulation* 1998;97; 99–107
60. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J.* 1999 Jan;13(1): 9–22
61. Ohyama Y, Meaney S, Heverin M, Ekström L, Brafman A, Shafir M, Andersson U, Olin M, Eggertsen G, Diczfalussy U, Feinstein E, Björkhem I. Inhibition of oxygen-induced retinopathy in RTP801-deficient mice. *J Biol Chem.* 2006 Feb 17;281(7): 3810–20
62. Olitsky ES, Nelson BL: Disorder of Retina and Vitreous: Nelson Textbook of Pediatrics. Onyedinci baskı. Behrman ED (ed), 2004 S. 2113–2119
63. Olofsson B, Pajusola K, Kaipainen A, von Euler G, Joukov V, Saksela O, Orpana A, Pettersson RF, Alitalo K, Eriksson U. Vascular endothelial growth factor B, a novel growth factor for endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 Mar 19;93(6): 2576–81

64. Papageorgiou A and Bordin CL: The extremely low birth weight infant. Neonatology. Beşinci baskı. Avery GB (ed), Philadelphia 1999, S. 445–473
65. Quinn TP, Peters KG, De Vries C, Ferrara N, Williams LT. Fetal liver kinase 1 is a receptor for vascular endothelial growth factor and is selectively expressed in vascular endothelium. Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 Aug 15;90(16):7533–7
66. Rajah R, Valentinis B, Cohen P. Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein–3 induces apoptosis and mediates the effects of transforming growth factor-beta1 on programmed cell death through a p53- and IGF-independent mechanism. J Biol Chem. 1997 May 2;272(18):12181–8.
67. Saunders RA, Purohit D, Hulsey TC. The effects of blood transfusion protocol on retinopathy of prematurity. Pediatrics. 2000 Aug;106(2 Pt 1):378–9
68. Schalij-Delfos NE, de Graaf ME, Treffers WF, Engel J, Cats BP. Long term follow up of premature infants: detection of strabismus, amblyopia, and refractive errors. Br J Ophthalmol. 2000 Sep;84(9):963–7
69. Section on Ophthalmology, American Academy of Pediatrics, American Academy of Ophthalmology and American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus. Screening Examination of Premature Infants for Retinopathy of Prematurity, Pediatrics 2006;117;572–576
70. Sennlaub F, Courtois Y, Goureau O. Inducible nitric oxide synthase mediates retinal apoptosis in ischemic proliferative retinopathy. J Neurosci. 2002 May 15;22(10):3987–93

71. Shah VA, Yeo CL, Ling YL, Ho LY. Incidence, risk factors of retinopathy of prematurity among very low birth weight infants in Singapore. *Ann Acad Med Singapore*. 2005 Mar;34(2):169–78
72. Smith LE. Pathogenesis of retinopathy of prematurity. *Semin Neonatol*. 2003 Dec;8(6):469–73
73. Smith LE Pathogenesis of retinopathy of prematurity *Semin Neonatol*. 2003 Dec;8(6):469–73
74. Smith LE. Pathogenesis of retinopathy of prematurity *Growth Hormone & IGF Research* 14 (2004) S140–S144
75. Stoll BJ and Kliegman RM: The High-Risk Infant: *Nelson Textbook of Pediatrics*. Onyedinci baskı. Behrman ED (ed), 2004 S.547–549
76. Stoll BJ and Kliegman RM: Clinical Manifestations of Diseases in the Newborn Period: *Nelson Textbook of Pediatrics*. Onyedinci baskı, Behrman ED (ed), 2004 S. 559–561
77. Subhani M, Combs A, Weber P, Gerontis C, DeCristofaro JD. Screening guidelines for retinopathy of prematurity: the need for revision in extremely low birth weight infants. *Pediatrics*. 2001 Apr;107(4):656–9
78. Suhardja A, Hoffman H. Role of growth factors and their receptors in proliferation of microvascular endothelial cells. *Microsc Res Tech*. 2003 Jan 1;60(1):70–5
79. Terry TL. Fibroblastic Overgrowth of Persistent Tunica Vasculosa Lentis in Infants Born Prematurely: II. Report of Cases-Clinical Aspects. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1942;40: 262–84

80. The STOP-ROP Multicenter Study Group. Supplemental Therapeutic Oxygen for Prethreshold Retinopathy of Prematurity (STOP-ROP), A Randomized, Controlled Trial. I: Primary Outcomes. *Pediatrics* 2000;105:295–310
81. Türk Farmakoloji Derneği Nitrik Oksit Farmakolojisi, Mayıs 2005 S. 1-68
82. Van der Zee R, Murohara T, Luo Z, Zollmann F, Passeri J, Lekutat C, Isner JM. Vascular endothelial growth factor (VEGF)/vascular permeability factor (VPF) augments nitric oxide release from quiescent rabbit and human vascular endothelium. *Circulation*. 1997;95: 1030–1037
83. VanderVeen DK, Coats DK, Dobson V, Fredrick D, Gordon RA, Hardy RJ, Neely DE, Palmer EA, Steidl SM, Tung B, Good WV. Early Treatment for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Prevalence and course of strabismus in the first year of life for infants with prethreshold retinopathy of prematurity: findings from the Early Treatment for Retinopathy of Prematurity study. *Arch Ophthalmol*. 2006 Jun;124(6):766–73
84. Venancio JP, Santos AM, Guinsburg R, Peres Cde A, Shinzato AR, Lora MI. Strict guideline reduces the need for RBC transfusions in premature infants. *J Trop Pediatr*. 2007 Apr;53(2):78–82
85. Villegas-Becerril E, Gonzalez-Fernandez R, Perula-Torres L, Gallardo-Galera JM. [IGF-I, VEGF and bFGF as predictive factors for the onset of retinopathy of prematurity (ROP)]. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2006 Nov;81(11):641–6
86. Watts P, Adams GG, Thomas RM, Bunce C. Intraventricular haemorrhage and stage 3 retinopathy of prematurity. *Br J Ophthalmol*. 2000 Jun;84(6):596–9
87. Xiang Q, Werdich, Gary W. McCollum, Veera S. Rajaratnam, John S. Penn. Variable oxygen and retinal VEGF levels: correlation with incidence and

- severity of pathology in a rat model of oxygen-induced retinopathy, *Experimental Eye Research* 79 (2004) 623–630
88. Zachary I, Gliki G. Signaling transduction mechanisms mediating biological actions of the vascular endothelial growth factor family. *Cardiovasc Res.* 2001 Feb 16;49(3):568–81
89. Zhang W, Ito Y, Berlin E, Roberts R, Berkowitz BA. Role of hypoxia during normal retinal vessel development and in experimental retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003 Jul;44(7):3119–23
90. Ziche M, Morbidelli L, Choudhuri R, Zhang HT, Donnini S, Granger HJ, Bicknell R. Nitric oxide synthase lies downstream from vascular endothelial growth factor-induced but not basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis. *J Clin Invest.* 1997 Jun 1;99(11):2625–34

Olgular	Cinsiyet	Doğum Haftası	Doğum Ağırlığı (Gram)	ROP Derecesi	Transfüzyon Sayısı	Sepsis	Mekanik Ventilasyon Günü	CPAP Aldığı Gün	Serbest Oksijen Aldığı Gün
---------	----------	---------------	-----------------------	--------------	--------------------	--------	--------------------------	-----------------	----------------------------

Olgu-1	Erkek	27	1450	0	3	Var	2	13	35
Olgu-2	Kız	29,3	1462	0	2	Var	3	1	7
Olgu-3	Erkek	31	1526	0	2	Var	3	4	8
Olgu-4	Erkek	26,2	718	0	10	Yok	16	30	104
Olgu-5	Erkek	28	900	0	1	Yok	0	0	15
Olgu-6	Kız	30	1007	0	6	Yok	2	2	13
Olgu-7	Erkek	31	1750	0	1	Yok	0	0	0
Olgu-8	Kız	32	1904	0	3	Yok	2	0	5
Olgu-9	Erkek	33	2400	0	1	Yok	0	3	6
Olgu-10	Erkek	33,6	1225	0	2	Yok	0	2	30
Olgu-11	Erkek	33,8	2040	0	3	Yok	7	0	1
Olgu-12	Erkek	34,3	1046	0	3	Yok	0	7	11
Olgu-13	Erkek	26	815	3	10	Var	15	15	30
Olgu-14	Erkek	26	1020	1	5	Var	16	17	33
Olgu-15	Kız	27	1110	2	9	Var	12	1	60
Olgu-16	Erkek	27	1120	2	7	Var	25	5	80
Olgu-17	Erkek	28	1053	2	13	Var	28	10	71
Olgu-18	Kız	28,1	970	1	5	Var	10	2	37
Olgu-19	Erkek	29	613	1	6	Var	3	1	109
Olgu-20	Erkek	29,8	1111	1	3	Var	0	2	15
Olgu-21	Erkek	29,8	1477	1	4	Var	12	3	15
Olgu-22	Erkek	31,6	716	1	5	Var	1	9	0
Olgu-23	Erkek	28	843	2	7	Yok	13	22	60
Olgu-24	Kız	28,1	1160	1	9	Yok	13	5	33

Olgu-25	Erkek	28,8	1500	1	2	Yok	0	11	15
Olgu-26	Kız	29,6	1486	2	2	Yok	0	3	15
Olgu-27	Erkek	29,8	1610	1	2	Yok	4	2	10
Olgu-28	Erkek	32,8	1458	1	4	Yok	9	5	21
Olgu-29	Kız	33	746	1	1	Yok	0	1	0
Olgu-30	Kız	33	860	1	3	Yok	0	0	60

EK-1: TABLOLAR

Tablo- XI: Olguların demografik özellikleri

Tablo-XII: Olguların eritrosit transfüzyonu öncesi ve sonrası NO değerleri

Olgu-23	NO TO 1 ($\mu\text{mol/l}$)	NO TS 1 ($\mu\text{mol/l}$)	NO TO 2 ($\mu\text{mol/l}$)	NO TS 2 ($\mu\text{mol/l}$)	NO TO 3 ($\mu\text{mol/l}$)	NO TS 3 ($\mu\text{mol/l}$)
Olgu-24	12,348	18	12,35	16,98	23,67	27,27
Olgu-25	9,773	0	20,38	0	27,78	16,48
Olgu-26	0	4,63	7,2	1,54	2,06	3,6
Olgu-27	16,464	29,841	14,41	20,07	=	=
Olgu-28	8,233	3,681	0	18,52	=	=
Olgu-29	26,525	49,392	84,99	24,7	=	=
Olgu-30	21,609	67,443	22,64	21,61	8,75	18,01
Olgu-7	15,484	90,29	0	=	=	=
Olgu-8	1,543	0	-	-	-	-
Olgu-10	0	81,291	0	-	-	-
Olgu-11	0	36,5295	0	-	-	-
Olgu-12	51,964	0	-	-	-	-
Olgu-13	0	6,174	4,63	6,69	13,41	30
Olgu-14	16,464	21,609	0	-	-	-
Olgu-15	23,667	3,601	87,47	0	11,32	7,2
Olgu-16	12,862	8,7465	0	-	-	-
Olgu-17	22,638	50,9355	21,61	42,7	16,46	0
Olgu-18	0	7,203	3,6	7,72	-	-
Olgu-19	25,725	7,203	20,58	10,8	9,78	6,69
Olgu-20	0	17,493	25,21	3,09	0,51	0
Olgu-21	12,862	0	-	-	-	-
Olgu-22	0	12,862	19,04	24,18	-	-
Olgu-23	26,239	19,551	30,36	0,51	48,88	44,77

Tablo–XIII: Olguların eritrosit transfüzyonu öncesi ve sonrası VEGF değerleri

Olgular	VEGF-TÖ-1 (pg/ml)	VEGF-TS-1 (pg/ml)	VEGF-TÖ-2 (pg/ml)	VEGF-TS-2 (pg/ml)	VEGF-TÖ-3 (pg/ml)	VEGF-TS-3 (pg/ml)
Olgu-29	788,2	762,74	709,16	92,96	367,68	7519,36
Olgu-30	1427,48	1299,28	—	—	—	—
Olgu-1	282,22	249,72	—	—	—	—
Olgu-2	553,38	1665,82	795,66	880,02	—	—
Olgu-3	525,26	968,7	—	—	—	—
Olgu-4	2177,92	1823,16	—	—	—	—
Olgu-5	519,4	412,56	—	—	—	—
Olgu-6	807,84	2576,24	—	—	—	—
Olgu-7	850,58	624,08	—	—	—	—
Olgu-8	384,64	890,84	—	—	—	—
Olgu-10	587,76	664,68	—	—	—	—
Olgu-11	0	0	—	—	—	—
Olgu-12	1725,82	1254,24	1104,98	858,38	1946,26	2167,12
Olgu-13	15,14	89,92	—	—	—	—
Olgu-14	643,32	13	267,94	128,38	461,9	280,5
Olgu-15	756,72	27,72	—	—	—	—
Olgu-16	168,31	1587,38	324,08	955,56	1120,12	510,12
Olgu-17	293,8	293,2	302,44	1377,54	—	—
Olgu-18	557,86	1183,9	829,2	871,94	60	—
Olgu-19	909,82	1098, ³	758,88	1024,94	1883,74	1927
Olgu-20	626,9	818,52	—	—	—	—
Olgu-21	529,58	988,18	1286,7	1511,66	—	—
Olgu-22	1280,02	307,1	2450,48	462,52	1526,8	1965,94
Olgu-23	384,64	847,26	767,54	711,77	202,94	1205,26
Olgu-24	1637,14	135,88	767,54	869,32	970,86	823,16
Olgu-25	849,73	659,38	893	882,18	1511,66	1158,02
Olgu-26	1266,22	1268,36	—	—	—	—
Olgu-27	341,38	0	2829,04	2637	—	—
Olgu-28	765,36	1248,36	880,02	1773,42	—	—

Tablo–XIV: Olguların eritrosit transfüzyonu öncesi ve sonrası IGF–1 değerleri

Olgular	IGF-1-TÖ-1 (µg/ml)	IGF-1-TS-1 (µg/ml)	IGF-1-TÖ-2 (µg/ml)	IGF-1-TS-2 (µg/ml)	IGF-1-TÖ-3 (µg/ml)	IGF-1-TS-3 (µg/ml)
Olgu-1	0	77,98	–	–	–	–
Olgu-2	0	–	0	52,62	–	–
Olgu-3	0	21,18	–	–	–	–
Olgu-4	0	0	–	–	–	–
Olgu-5	0	123,14	–	–	–	–
Olgu-6	–	27,16	–	–	–	–
Olgu-7	0	–	–	–	–	–
Olgu-8	–	–	–	–	–	–
Olgu-10	0	0	–	–	–	–
Olgu-11	0	0	–	–	–	–
Olgu-12	0	0	23,14	0	0	72,26
Olgu-13	0	264,3	–	–	–	–
Olgu-14	0	0	–	–	–	–
Olgu-15	117,46	319,84	–	–	–	–
Olgu-16	0	0	76,2	201,94	0	146,94
Olgu-17	0	0	9,4	21,18	–	–
Olgu-18	0	0	0	0	0	0
Olgu-19	0	0	0	0	21,18	56,56
Olgu-20	0	0	–	–	–	–
Olgu-21	–	50,66	5,3	235,34	–	–
Olgu-22	7,44	0	253,02	0	–	38,86
Olgu-23	0	0	31,18	0	0	0
Olgu -24	80,12	127,28	3,5	0	168,54	87,98
Olgu-25	82,1	64,42	162,64	3,5	0	304,12
Olgu-26	68,56	113,74	–	–	–	–
Olgu-27	0	40,58	266,78	308,04	–	–
Olgu-28	107,64	97,82	22,14	286,44	–	–
Olgu-29	0	0	42,22	266,18	0	4,58
Olgu-30	10,22	0	–	–	–	–

Tablo-XV: Olguların eritrosit transfüzyonu öncesi ve sonrası IGFBP3 değerleri

Olgular	IGFBP3-TÖ-1 (µg/ml)	IGFBP3-TS-1 (µg/ml)	IGFBP3-TÖ-2 (µg/ml)	IGFBP3-TS-2 (µg/ml)	IGFBP3-TÖ-3 (µg/ml)	IGFBP3-TS-3 (µg/ml)
Olgu-1	802,34	–	–	–	–	–
Olgu-2	1078,78	1685,28	1126,34	995,54	–	–
Olgu-3	566,42	1756,64	–	–	–	–
Olgu-4	1204,74	507,54	–	–	–	–
Olgu-5	991,14	1284,8	–	–	–	–
Olgu-6	–	1106, ³	–	–	–	–
Olgu-7	1190,4	1075,04	–	–	–	–
Olgu-8	–	1673, ³	–	–	–	–
Olgu-10	1273,6	1609,94	–	–	–	–
Olgu-11	–	–	–	–	–	–
Olgu-12	745,8	1994,48	431,74	567,42	2137,18	1506,9
Olgu-13	292,4	1735,8	–	–	–	–
Olgu-14	1358,22	466,72	1043,58	959,66	791,86	1484,08
Olgu-15	2291,78	2945,86	–	–	–	–
Olgu-16	1578,26	2434, ³	710,12	1530,68	983,64	864,72
Olgu-17	591,2	121,2	531,74	662,54	–	–
Olgu-18	1242,86	1442,12	1358,22	739,42	1420,12	1452,52
Olgu-19	640,66	923,26	757,68	1185,8	543,62	424,7
Olgu-20	907,22	–	–	–	–	–
Olgu-21	–	1697,18	1613,92	2268,12	–	–
Olgu-22	1602,04	1007,42	3576,16	555,52	1602,04	3207,5
Olgu-23	459,34	–	1328,52	1054,06	1423,66	833,82
Olgu -24	650,66	591,2	686,34	662,54	1173,92	971,74
Olgu-25	710,12	733,9	1292,84	995,54	1435,54	1483,12
Olgu-26	1767,26	1683,36	–	–	–	–
Olgu-27	1387,98	1935,02	2493,96	0	–	–
Olgu-28	2339,36	1732,86	1744,74	1649,6	–	–
Olgu-29	298,92	666	1767,26	–	1022,6	1851,16
Olgu-30	645,58	896,74	–	–	–	–

Ek- 2: Hasta takip formu

Çalışma NO:

Hastanın Adı:

Dosya No:

DT:

GY :

DA:

Cins:

Eritrosit Transfüzyon Tarihi:

1- tx öncesi Hb.....cc/kg NO:.....VEGF:.....KB:..... Nb:.....

2- tx öncesi Hb.....cc/kg NO:.....VEGF:.....KB:..... Nb:.....

3- tx öncesi Hb.....cc/kg NO:.....VEGF:.....KB:..... Nb:.....

4- tx öncesi Hb.....cc/kg NO:.....VEGF:.....KB:..... Nb:.....

Prematür bebeklerde yaşamın 3. gününden sonra eritrosit tx öncesi ve tx sonrası 2cc kan alınıp serumu ayrılıp -80 derecede saklanacak. Hedef olan 25 hastaya ulaşıldığında Tx öncesi ve tx sonrası NO ve VEGF düzeyleri ölçülecek.

Notlar: Toplam Transfüzyon sayısı:

Prematür bebeklerde ROP muayenesi sonuçları:

NEK geliştirse tarihi:

Sepsis varsa tarihi:

EK-3: Etik Kurul kararı

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
YEREL ETİK KURULU

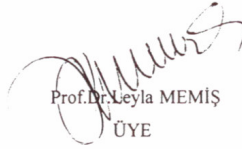
Tarih
21.03.2005

Sayı
51

Konu
Etik Kurul Kararı Hk.

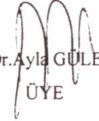
Fakültemiz Öğretim Üyesi Doç.Dr.Ebru Ergenekon'un sorumlu araştırmacısı olduğu "Prematüre bebeklerde transfüzyon öncesi ve transfüzyon sonrası nitrik oksit ve vasküler endotelial büyüme (growth) faktörü düzeyleri ve prematüre retinopatisi üzerine etkileri" başlıklı çalışması, Etik Kurulumuzca incelenerek uygun bulunmuştur.

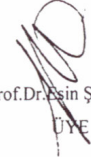

Prof.Dr.Türkiz GÜRSEL
BAŞKAN


Prof.Dr.Leyla MEMİŞ
ÜYE

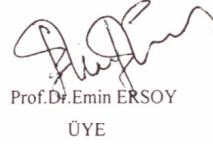

Prof.Dr.Ceyda KARADENİZ
ÜYE

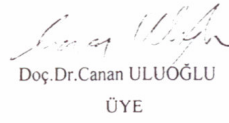
Prof.Dr.Aysel ARICIOĞLU
ÜYE (Katılmadı)


Prof.Dr.Ayla GÜLEKÖN
ÜYE


Prof.Dr.Esin ŞENOL
ÜYE


Prof.Dr.Fatma AKAR
ÜYE


Prof.Dr.Emin ERSOY
ÜYE


Doç.Dr.Canan ULUOĞLU
ÜYE

Yrd.Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU
ÜYE

